
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de **É. Metchnikoff**.

SUR LES CONDITIONS DE LA BACTÉRICIDIE PROVOQUÉE PAR LES SUBSTANCES LEUCOCYTAIRES CHEZ L'ANIMAL

par **ALFRED PETERSSON**.

(Travail du Laboratoire bactériologique de l'Institut médical de l'État
à Stockholm.)

Dans les recherches sur l'origine de l'alexine dans le sérum sanguin on eut d'abord recours aux globules blancs. En effet, ces cellules étaient considérées comme dépositaires de substances bactéricides et comme la source de l'alexine. Quelques auteurs, comme Buchner, par exemple, voyaient dans l'alexine un produit de sécrétion des leucocytes et dans la sortie des substances bactéricides de ces cellules un véritable acte sécrétoire. D'autres, comme M. Metchnikoff, ont supposé que l'alexine ne quittait les cellules génératrices qu'après leur mort ou qu'à la suite d'une lésion plus ou moins grave. Cependant l'étude des substances bactéricides des leucocytes a montré que ceux-ci possédaient des propriétés tout à fait différentes de celles du sérum sanguin, de sorte qu'aujourd'hui on

peut regarder les substances bactéricides des leucocytes et celles du sérum sanguin comme définitivement différentes. Toujours est-il que, à l'heure actuelle, rien ne prouve que l'alexine de sérum prenne naissance dans les globules blancs.

Bien que l'acte sécrétoire qu'exécutent les leucocytes ne puisse expliquer l'apparition de l'alexine dans le sang, cette hypothèse n'est pourtant pas abandonnée. Schnéider [4] croit avoir constaté qu'une dilution de sérum dans de l'eau salée à 5 p. 100 est favorable à la sécrétion de substances bactéricides faite par les leucocytes. Il a donné à ce produit de sécrétion le nom de Leukine.

Ce n'est pas mon intention de discuter ici cette hypothèse. Je me bornerai à examiner si les substances bactéricides des leucocytes exercent l'action microbicide au dehors des cellules, sans me préoccuper du problème si ces substances sont sécrétées par des leucocytes vivants ou bien si elles sont mises en liberté après la mort des leucocytes.

Gruber et Futaki [2] ont observé chez la poule la destruction du bacille charbonneux au dehors des leucocytes. Il faut attribuer cette destruction à l'action des substances leucocytaires, vu l'inefficacité des liquides de cet animal à l'égard dudit bacille. Comme je l'ai démontré auparavant [3], on peut préserver le lapin contre l'infection charbonneuse en inoculant chez lui simultanément les bacilles et l'extrait leucocytaire. Il en résulte que chez lui l'extrait détruit les bacilles même à l'intérieur de l'animal, c'est-à-dire que les substances bactéricides leucocytaires agissent sur ces bacilles au dehors des leucocytes. Weil [4] et Suzuki [5] ont prouvé la destruction de certains microcoques saprophytes au dehors des leucocytes au moyen de leurs substances bactéricides. Ils ont donné à ce phénomène le nom d'aphagocidie.

La destruction extracellulaire des microbes provoquée par les substances bactéricides des leucocytes est donc démontrée. Seulement les conditions dans lesquelles elle se réalise sont peu connues; avant tout nous ne savons pas si les bactéries en général sont susceptibles de subir cette forme de bactériolyse. Les recherches suivantes contribueront, je l'espère, à la solution de ce problème.

J'ai montré, il y a quelques années, qu'on peut se rendre compte de l'action bactéricide des leucocytes en les injectant à l'animal, mêlés avec les bactéries sur lesquelles on veut examiner leur effet. Dans le cas où les bactéries sont englobées par les leucocytes, l'expérience ne prouve pourtant pas que les substances bactéricides soient sorties de l'intérieur des leucocytes. En supposant qu'il en soit ainsi, il ne s'ensuit pas qu'elles auraient été capables d'exercer leur action également au dehors des cellules. Pour trancher cette dernière question, il est nécessaire d'éliminer la phagocytose des bactéries, ce qui peut se faire, si l'on exalte la virulence de ces dernières.

*
* *

Je vais commencer par citer quelques expériences faites avec le bacille du charbon. Celui-ci avait passé récemment par plusieurs lapins, et le virus à injecter provenait de la rate d'un animal venant de mourir. Les bâtonnets étaient tous encapsulés et non susceptibles de se laisser phagocyter par les leucocytes de lapin.

EXPÉRIENCE I

Une goutte de suc exprimé de la rate d'un lapin, mort de charbon, fut mise dans l'eau salée. On en préleva une quantité déterminée qui fut mélangée avec des leucocytes frais de lapin. Le mélange fut ensuite injecté, à un lapin neuf, sous la peau.

Lapin de 1.350 grammes, reçut $\frac{1}{50}$ goutte de suc de la rate charbonneuse et 1 gr. 75 de leucocytes frais du lapin. Survit.

Lapin de 1.350 grammes, reçut $\frac{1}{25}$ goutte du même suc et 1 gr. 75 de leucocytes de lapin. Survit.

Lapin de 1.400 grammes, reçut $\frac{1}{50}$ goutte du même virus charbonneux. Il mourut le 3^e jour.

EXPÉRIENCE II

Mêmes dispositions. Le virus charbonneux provenait du dernier lapin de l'expérience précédente.

Lapin de 1.400 grammes, reçut $\frac{1}{20}$ goutte de virus charbonneux et 1 gr. 5 de leucocytes de lapin. Survit.

Lapin de 1.400 grammes, reçut $\frac{1}{10}$ goutte de virus et 1 gr. 5 de leucocytes frais de lapin. Survit.

Lapin de 1.380 grammes, reçut $\frac{1}{20}$ goutte de virus. Il mourut le surlendemain.

EXPÉRIENCE III

Mêmes dispositions. Le virus provenait d'un lapin inoculé avec la rate du dernier lapin de l'expérience II.

Lapin de 1.850 grammes, reçut $1/15$ goutte de virus et 1 gr. 3 de leucocytes frais de lapin. Survit.

Lapin de 1.140 grammes, reçut $1/10$ goutte du même virus et 1 gr. 3 de leucocytes frais de lapin. Survit.

Lapin de 1.000 grammes, reçut $1/5$ goutte du même virus et 1 gr. 3 de leucocytes frais de lapin. Survit.

Lapin de 1.350 grammes reçut $1/15$ goutte de virus. Il mourut de charbon le surlendemain.

Il est donc évident que ce sont les leucocytes qui ont détruit les bacilles charbonneux. D'autre part, on peut être sûr que les leucocytes n'ont pas englobé les bacilles, sinon en très petit nombre, l'origine employée (Sobernheim) ayant dès le début une très grande virulence et celle-ci étant encore augmentée par suite de plusieurs passages par le lapin. Par conséquent, on doit conclure que les bacilles ont été tués au dehors des leucocytes. Mais, comme les humeurs de lapin sont *in vivo* sans action sur le bacille charbonneux, la destruction en question a dû se faire à l'aide des substances bactéricides provenant des leucocytes. Cette supposition se trouve d'accord avec le fait que l'extrait des leucocytes exerce une action protectrice contre l'infection charbonneuse.

D'aucuns ont cherché à expliquer l'immunité acquise contre le charbon par la présence de bactériotropines; par conséquent, la sensibilité de l'animal neuf serait causée par le manque de ces substances. En effet, Gruber et Futaki [2] ont supposé que la réceptivité du lapin au charbon est due à ce que des bacilles encapsulés sont réfractaires à l'action phagocytaire. Comme le démontrent les expériences, il n'en est pas ainsi du lapin. Cet animal ne manque pas du tout de moyens de défense contre le charbon, mais ceux-ci ne sont pas mis en œuvre lors de l'infection. Il ne se produit ni hyperleucocytose, ni accumulation de leucocytes au lieu d'infection chez le lapin neuf. Mais si l'on produit une hyperleucocytose artificielle, on rend le lapin résistant tout comme le chien et la poule. On ne peut pourtant pas affirmer que l'action protectrice des leucocytes de

lapin soit très considérable, car il en faut une assez grande quantité pour faire ressortir cette action.

J'ai entrepris ensuite des recherches analogues avec le streptocoque. La race employée a d'abord été étudiée par M. Holst. Pendant plusieurs années, elle a conservé pour le lapin une virulence assez constante et très considérable.

TABLEAU I

Des leucocytes frais de lapin, émulsionnés dans 2 cent. cubes d'eau salée furent mélangés avec 1 cent. cube d'une dilution de culture streptococcique en bouillon. Le mélange fut injecté, sous la peau, à des lapins neufs. La colonne indiquant la quantité injectée de la culture streptococcique contient également le nombre des colonies développées après ensemencement de la culture.

| QUANTITÉS DE CULTURE | QUANTITÉS de LEUCOCYTES | ANIMAUX D'EXPÉRIENCE | | ANIMAUX DE CONTRÔLE | |
|---|-------------------------------|----------------------|--------------|---------------------|--------------|
| | | Poids | Résultats | Poids | Résultats |
| 1/1.000.000.000 c.c. = 31 colonies. | 1 gr. 2 | 1.750 gr. | + après 3 j. | 1.650 gr. | + après 3 j. |
| 1/1.000.000.000 c.c. = 688 colonies. | 2 gr. 0 | 1.510 gr. | + après 3 j. | 1.430 gr. | + après 2 j. |
| 1/ 50.000.000 c.c. = 806 colonies. | 1 gr. 2 | 1.700 gr. | + après 1 j. | 1.650 gr. | + après 2 j. |
| 1/ 10.000.000 c.c. = 1.504 colonies. | 1 gr. 6 | 1.800 gr. | Survit. | 1.500 gr. | + après 3 j. |

TABLEAU II

Mêmes dispositions qu'au tableau précédent. Injection dans la plèvre.

| QUANTITÉS DE CULTURE | QUANTITÉS de LEUCOCYTES | ANIMAUX D'EXPÉRIENCE | | ANIMAUX DE CONTRÔLE | |
|--|-------------------------------|----------------------|--------------|---------------------|--------------|
| | | Poids | Résultats | Poids | Résultats |
| 1/50.000.000 c.c. = 124 colonies. | 1 gr. 3 | 1.430 gr. | + après 2 j. | 1.430 gr. | + après 3 j. |
| 1/10.000.000 c.c. = 1.440 colonies. | 1 gr. 0 | 1.710 gr. | + après 2 j. | 1.620 gr. | + après 2 j. |

Des prélèvements faits aux lieux d'infection montraient toujours un manque de phagocytose. On voit que l'addition des leucocytes n'a pas eu le moindre effet sur l'infection. Mais on peut se demander si les leucocytes ont mis en liberté des substances bactéricides. Voilà pourquoi j'ai répété les expériences avec de l'extrait leucocytaire.

Dans une autre série, j'ai injecté aussi bien des leucocytes que de l'extrait leucocytaire.

TABLEAU III

Un extrait fut fait des leucocytes frais de lapin congelés et dégelés plusieurs fois dans 2 cent. cubes d'eau salée. L'extrait, séparé des débris cellulaires par centrifugation, fut mêlé avec 1 cent. cube de bouillon septococcique dilué et injecté, sous la peau, à des lapins neufs.

| QUANTITÉS DE CULTURE | QUANTITÉS de LEUCOCYTES | ANIMAUX D'EXPÉRIENCE | | ANIMAUX DE CONTRÔLE | |
|---|-------------------------------|----------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | | Poids | Résultats | Poids | Résultats |
| 1/5.000.000.000 c.c. = 26 colonies. | 1 gr. 0 | 1.500 gr. | + ap. 1 j. 1/2. | 1.450 gr. | + ap. 1 j. 1/2. |
| 1/1.000.000.000 c.c. = 89 colonies. | 1 gr. 0 | 1.500 gr. | + après 2 j. | 1.450 gr. | + après 2 j. |
| 1/1.000.000.000 c.c. = 152 colonies. | 1 gr. 0 | 1.470 gr. | + après 1 j. | 1.650 gr. | + après 2 j. |

TABLEAU IV

Mêmes dispositions qu'au tableau III. Injection dans la plèvre.

| QUANTITÉS DE CULTURE | QUANTITÉS de LEUCOCYTES | ANIMAUX D'EXPÉRIENCE | | ANIMAUX DE CONTRÔLE | |
|---|-------------------------------|----------------------|--------------|---------------------|--------------|
| | | Poids | Résultats | Poids | Résultats |
| 1/10.000.000.000 c.c. = 13 colonies. | 1 gr. 5 | 2.000 gr. | + après 1 j. | 1.600 gr. | Survit. |
| 1/ 1.000.000.000 c.c. = 17 colonies. | 1 gr. 5 | 1.450 gr. | + après 1 j. | 1.400 gr. | + après 1 j. |
| 1/ 500.000.000 c.c. = 18 colonies. | 1 gr. 5 | 1.370 gr. | + après 2 j. | 1.370 gr. | Survit. |

TABLEAU V

Mêmes dispositions qu'au tableau IV. Le mélange des leucocytes de l'extrait et du bouillon streptococcique fut injecté, sous la peau, à des lapins neufs.

| QUANTITÉS DE CULTURE | QUANTITÉS de LEUCOCYTES et quantités DE L'EXTRAIT | ANIMAUX D'EXPÉRIENCE | | ANIMAUX DE CONTRÔLE | |
|--|--|----------------------|------------|---------------------|------------|
| | | Poids | Résultats | Poids | Résultats |
| 1/5.000.000.000 c.c. = 10 colonies. | 0 gr. 75 de leucocytes + extrait de 0 gr. 5 de leucocytes. | 2.000 gr. | Survit. | 1.950 gr. | + ap. 2 j. |
| 1/ 500.000.000 c.c. = 126 colonies. | 0 gr. 75 de leucocytes + extrait de 0 gr. 5 de leucocytes. | 1.280 gr. | + ap. 2 j. | 1.150 gr. | + ap. 1 j. |
| 1/ 100.000.000 c.c. = 180 colonies. | 0 gr. 75 de leucocytes + extrait de 0 gr. 5 de leucocytes. | 1.200 gr. | + ap. 1 j. | 1.340 gr. | + ap. 1 j. |
| 1/ 50.000.000 c.c. = 174 colonies. | 1 gr. 0 de leucocytes + extrait de 0 gr. 6 de leucocytes. | 1.220 gr. | + ap. 3 j. | 1.220 gr. | + ap. 2 j. |

Un manque de rapport a souvent été constaté entre les quantités de culture et le nombre de germes qu'elles contenaient. Ce fait tient à ce que les cultures n'avaient pas toujours le même âge. Or il ressort des expériences qu'une dizaine environ de streptocoques constituait la dose minima mortelle. J'ai essayé d'éviter de trop dépasser ce nombre. Toutefois, ni les leucocytes, ni l'extrait leucocytaire, ni les deux ensemble n'ont produit d'effet quelconque sur les bactéries. Il s'ensuit que, si des substances bactéricides sont vraiment sorties des leucocytes, leur action bactéricide a probablement été supprimée au dehors des leucocytes, car les quantités injectées de l'extrait devaient suffire pour tuer quelques dizaines de streptocoques.

Il était alors de grand intérêt de savoir si l'extrait leucocytaire renforce l'action protectrice du sérum antistreptococ-

cique. Pour cette recherche, je me suis servi du sérum d'un lapin immunisé avec le streptocoque employé.

TABLEAU VI

5 lapins neufs furent inoculés avec des doses croissantes d'une culture de streptocoque en bouillon. La quantité de culture à inoculer fut mêlée avec 0 c.c. 1 de sérum antistreptococcique et l'extrait de 0 c.c. 5 de leucocytes frais de lapin. Il ne fut injecté aux animaux de contrôle que les quantités correspondantes de culture et 0 c.c. 1 de sérum.

| | QUANTITÉS de culture STREPTOCOCCIQUE | EXTRAIT DE LEUCOCYTES | RÉSULTATS |
|--------------------|--|--------------------------|---------------------|
| Lapin de 630 gr. | 0 c.c. 03 | 0 | Survit. |
| Lapin de 550 gr. | 0 c.c. 03 | + | Survit. |
| Lapin de 850 gr. | 0 c.c. 1 | 0 | Survit. |
| Lapin de 740 gr. | 0 c.c. 1 | + | Mort après 3 jours. |
| Lapin de 940 gr. | 0 c.c. 3 | 0 | Mort après 3 jours. |
| Lapin de 960 gr. | 0 c.c. 3 | + | Mort après 4 jours. |
| Lapin de 1.000 gr. | 1 c.c. 0 | 0 | Mort après 3 jours. |
| Lapin de 1.000 gr. | 1 c.c. 0 | + | Mort après 3 jours. |

D'autres expériences ont donné un résultat analogue.

L'addition de l'extrait leucocytaire n'a pas amené une augmentation de la force protectrice du sérum. J'ai encore examiné si l'action du sérum est renforcée par les leucocytes intacts. Dans les nombreuses expériences que j'ai entreprises dans ce but, un effet produit par les leucocytes ne fut jamais observé. Ce résultat assez surprenant ressort, selon moi, de l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE IV

Un lapin neuf fut inoculé sous la peau avec environ 300.000 streptocoques et 1 c.c. 0 de sérum antistreptococcique. La même dose de streptocoques et de sérum, mais mêlée avec des leucocytes frais de lapin, fut injectée à un autre lapin. De temps à autre on fait des prélèvements au lieu d'inoculation.

Lapin de 1.850 grammes, injecté avec 300.000 streptocoques et 1 c.c. 0 de sérum antistreptococcique.

Lapin de 1.800 grammes, injecté avec 300.000 streptocoques, 1 c.c. 0 de sérum antistreptococcique et 0 gr. 6 de leucocytes. Immédiatement après l'injection, les streptocoques étaient en grande minorité, comparés aux leucocytes.

Après 6 heures : Accroissement apparent des streptocoques, peu de leucocytes, pas de phagocytose.

Après 22 heures : Un extrêmement grand nombre de leucocytes, les streptocoques sont à peu près aussi nombreux que 6 heures après l'inoculation, çà et là des leucocytes ayant englobé des diplocoques.

Après 30 heures : Les streptocoques sont moins nombreux qu'au moment du prélèvement précédent, la phagocytose plus avancée.

Après 6 heures : Les streptocoques dont la plupart sont libres et bien colorés, plus nombreux que lors de l'injection. Des cellules isolées seules de la grande quantité de leucocytes ont englobé un couple ou deux de diplocoques.

Après 22 heures : A peu près le même aspect que chez l'autre lapin.

Après 30 heures : Décroissement des streptocoques libres, phagocytose plus fréquente.

En 1897, Bordet [6] a constaté que l'inoculation intrapéritonéale des streptocoques était suivie d'un afflux considérable des leucocytes. Mais la phagocytose faisait complètement défaut pendant les premières heures. Les streptocoques, par contre, se multipliaient considérablement. Ce n'est qu'après ce délai que les leucocytes commençaient à englober les streptocoques, et la cavité péritonéale ne tardait pas à en être débarrassée. Le même phénomène s'observe, comme on le voit, aussi chez le lapin passivement immunisé. Il est facile de comprendre pourquoi les leucocytes introduits lors de l'inoculation n'ont pu changer la marche de l'infection chez le lapin passivement immunisé. La phagocytose des streptocoques inoculés ne s'effectue jamais immédiatement après l'inoculation. Pendant le temps qui s'écoule jusqu'au commencement de ce procédé, les leucocytes de l'animal en expérience se sont amassés en quantité tout à fait suffisante pour englober les streptocoques.

Il résulte aussi de ces expériences que les streptocoques ne sont jamais tués au dehors des leucocytes, qu'il s'agisse d'un lapin neuf, vacciné ou passivement immunisé. Certes, on ne peut pas conclure de ces expériences que des substances agissant sur les streptocoques ne quittent les leucocytes dans le corps animal. Mais si elles le font, leur action doit être paralysée après la sortie des leucocytes. Les leucocytes ont été aussi inefficaces à l'égard des streptocoques que l'extrait dans

les expériences précédentes. J'ai déjà montré que l'action des substances bactéricides des leucocytes est supprimée *in vitro* par divers colloïdes, entre autres, par l'albumine du blanc d'œufs ou du sérum [7]. Ce sont probablement des corps analogues qui rendent ces substances inefficaces aussi chez l'animal.

Des recherches, effectuées dans ce laboratoire, encore inédites, de M. Tillgren ont mis en évidence un fait absolument analogue pour le pneumocoque, dont la virulence avait été exaltée par des passages chez le lapin. L'infection pneumococcique du lapin ne saurait être influencée ni par les leucocytes frais, ni par l'extrait leucocytaire.

M. Lindahl [8] a examiné ce qui se passe dans la chambre antérieure de l'œil lorsqu'on y introduit des leucocytes frais. Des streptocoques et des pneumocoques furent étudiés également. Il pouvait constater que l'œil dans lequel avaient été introduit des leucocytes, se débarrassait vite des microbes inoculés, tandis que dans l'autre œil ce phénomène ne se produisait point ou bien seulement après un très long laps de temps. Les leucocytes avaient donc augmenté la résistance à l'infection produite par lesdits microbes. Ce fait ne contredit, bien entendu, nullement les résultats obtenus par les recherches mentionnées ci-dessus. Les microbes employés par M. Lindahl n'ayant, à l'encontre des races employées maintenant, qu'une virulence médiocre, les leucocytes les englobaient énergiquement.

Il est intéressant de rapprocher la marche de la pneumonie aiguë chez l'homme et les faits signalés plus haut. Les pneumocoques, on le sait, se multiplient et les leucocytes s'accumulent dans les alvéoles pulmonaires sans provoquer de phagocytose, sinon à un faible degré. Les pneumocoques sont évidemment trop virulents pour être englobés par les leucocytes. Quoiqu'il se produise une désagrégation assez considérable des leucocytes, suivie de mise en liberté de substances bactéricides, il semble que cette circonstance n'exerce aucune influence sur les pneumocoques, et que l'hépatisation du poumon n'en progresse pas moins. Ce n'est qu'au moment où les bactériotropines sont en quantité suffisante pour provoquer une phagocytose générale des pneumocoques que survient la

crise salutaire. Il n'existe donc pas, à mon avis, chez l'homme de pouvoir bactéricide à l'égard des pneumocoques dû aux substances issues des leucocytes. Une mise en liberté des substances analogues existe indubitablement lors de la désagrégation consécutive à la mort des leucocytes, et ces substances agissent *in vitro* sur les pneumocoques. La suppression de leur action chez l'animal doit donc être attribuée à la force paralyssante des humeurs.

CONCLUSIONS.

Le bacille du charbon est, chez le lapin, sensible à l'action des substances bactéricides des leucocytes, aussi en dehors des cellules. Les bâtonnets encapsulés ne font pas exception à cette règle. La réceptivité du lapin au charbon n'est donc pas due à ce que le bacille du charbon se soustrait à la phagocytose mais au manque d'hyperleucocytose après l'infection et au manque relatif de substances bactéricides des leucocytes.

Chez le lapin, les substances bactéricides des leucocytes sont sans action sur les streptocoques en dehors de leucocytes; dans le cas seul où les streptocoques ont été englobés, ils sont tués par les leucocytes.

Il en est de même du pneumocoque chez le lapin et chez l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SCHNEIDER. — *Archiv für Hygiene*, t. 70.
- [2] GRUBER et FUTAKI. — *Münchener med. Wochenschrift*, 1907.
- [3] PETERSSON. — *Centralblatt f. Bakteriologie*, Abt. I, t. 52.
- [4] WEIL. — *Wiener klin. Wochenschrift*, 1911.
- [5] SUZUKI. — *Archiv für Hygiene*, t. 74.
- [6] BORDET. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887.
- [7] PETERSSON. — *Centralblatt f. Bakteriologie*, Abt. I, t. 60.
- [8] LINDAHL. — *Archiv für Augenheilkunde*, t. 67, *Ergänzungsheft*.

RECHERCHES SUR LE BACILLE DE BORDET ET SON APPARITION DANS LA COQUELUCHE

par le Dr H. GIESE,
Médecin départemental à Bornholm.

Tandis que les descriptions bactériologiques de l'expectoration de la coqueluche sont essentiellement d'accord chez les différents auteurs, les tentatives de culture donnent des résultats plus ou moins divergents.

Après que Bürger eut décrit en 1883 de petits bacilles ovoïdes dans l'expectoration coquelucheuse, la plupart des observateurs ont trouvé de semblables microbes tantôt teints seulement aux extrémités, tantôt teints d'une manière plus diffuse, et on les a trouvés en si grand nombre, surtout au début de l'affection, qu'il paraissait naturel de leur attribuer une importance étiologique. Les bactéries isolées sont toutes — excepté le bacille assez grossier et trapu, trouvé par Afanasieff, dont la croissance était semblable à celle du bac. coli — de petits bacilles délicats (environ 1 μ de longueur) qui ressemblent morphologiquement au bacille de Pfeiffer. Elles se divisent en deux groupes : les bactéries hémoglobino-philés et les bactéries non hémoglobino-philés. Ce dernier groupe comprend les bactéries trouvées par Czaplewski et Hensel, par Kaplic, Nusch, Vincenzi, Arnheim, Gochmann et Krause (Bac. I) et Manicatide. Elles se développent toutes sur de la gélose et dans du bouillon, tandis que les bactéries d'Elmassian et de Suzato ne se développent dans ces milieux qu'après l'addition de liquide d'ascite ou d'hydrocèle. Les bactéries hémoglobino-philés sont cultivées à l'état pur de l'expectoration coquelucheuse par Spengler, Gochmann et Krause, Reyher et Bordet et Gengou. De toutes ces bactéries dont quelques-unes, d'après les descriptions présentes, sont probablement identiques, c'est surtout le bacille de Czaplewski, celui de Gochmann et Krause

et celui de Bordet qui ont attiré l'attention. Les recherches de Czaplewski sont essentiellement attestées par Arnheim (dans ses travaux de 1900 et de 1903) et par Reyher (1903, 1905) qui a constaté aussi la présence du bacille de Czaplewski dans des coupes du larynx, où il se trouvait dans les cellules plates de l'épithélium, mais non dans les cellules cylindriques; par contre, des tentatives d'agglutination avec le sérum de convalescents de la coqueluche ont donné des résultats négatifs.

La présence de la bactérie hémophile de Gochmann et de Krause (*Bac. pertussis* Eppendorf) qui, en culture et au microscope, ne se distingue pas du bacille de l'influenza de Pfeiffer, a été constatée aussi par Wollstein, Wohlwill, Soulima (ce dernier l'identifie au bacille Bordet) et d'autres dans l'expectoration de la coqueluche, tandis que Tedesco a démontré à l'aide de nombreuses autopsies que des microbes semblables à ceux de l'influenza se trouvent souvent dans des cas d'affections catarrhales des poumons; cette découverte, qui a été confirmée cliniquement, affaiblit extrêmement la supposition du bacille de Gochmann et de Krause comme agent étiologique de la coqueluche.

Il y aurait lieu de nommer ici le bacille de Manicatide dont la présence — d'après les recherches de cet auteur — se constate presque constamment dans l'expectoration coquelucheuse (sur 200 cas il n'y en avait que 12 négatifs); il donne une séroréaction positive avec le sérum d'enfants atteints de la coqueluche (réaction de fixation du complément, positive dans 19 cas, 6 cas de contrôle tous négatifs; l'agglutination 1 : 60-1 : 100 dans 28 cas; cas de contrôle tous négatifs); de même, on dit que la sérothérapie et la séroprophylaxie employées par l'auteur avec le sérum de chevaux et de moutons traités par ce bacille se sont montrées très efficaces. Pourtant, jusqu'à présent personne n'a publié de recherches ultérieures sur les résultats de Manicatide.

En 1906, la communication de Bordet et Gengou sur le bacille trouvé par eux dans l'expectoration coquelucheuse a paru, et plus tard la discussion a porté presque exclusivement sur le rôle étiologique de ce bacille dans la coqueluche. Les résultats des recherches de culture ont attesté la découverte de Bordet et Gengou, que le bacille isolé par eux de l'expecto-

ration de la coqueluche se trouve dans un grand nombre d'affections coquelucheuses, la quantité des résultats positifs vérifiés par la culture variant pourtant beaucoup. Ainsi, Seiffert, Klunenko, Inaba et Finizio ont réussi à cultiver le bacille de Bordet à l'état pur, dans respectivement 12 cas sur 16, 5 sur 5, 68 sur 77 et 13 sur 16, tandis que Fränkel a eu 8 cultures pures provenant de 38 cas, Arnheim, 6 de 20 cas, Odaira, 6 de 35 cas et Wollstein, 5 de 20 cas. Toutes ces recherches ont permis d'isoler le bacille-Bordet de l'expectoration coquelucheuse. Quant aux autopsies, la culture pure provenant des poumons a réussi 2 fois sur 7 pour Odaira, 1 fois pour Wollstein, tandis que les 6 autopsies de Arnheim ont donné toutes un résultat négatif. Seiffert a isolé le bacille de Bordet des poumons, des bronches, du foie et du sang d'un malade atteint de la coqueluche et mort d'une broncho-pneumonie. Klimenko a cultivé lui aussi à l'état pur le bacille-Bordet provenant des poumons et du sang de l'oreillette droite d'un malade atteint de la coqueluche et mort de *Pneumonia catarrhalis* et de *Pleuritis fibrino-purul.* Le plus souvent la culture a réussi quand le bacille provenait de l'expectoration crachée pendant la 1^{re} ou la 2^e semaine de l'affection, rarement quand celle-ci était crachée pendant les périodes ultérieures. On a pourtant obtenu des résultats positifs dans des tentatives de culture des crachats recueillis pendant la 7^e ou la 8^e semaine du stade convulsif.

Tandis qu'assez souvent on a isolé et cultivé à l'état pur le bacille-Bordet provenant de l'expectoration coquelucheuse, malgré beaucoup de tentatives, on n'a jamais pu le faire de l'expectoration de malades non atteints de la coqueluche. Au microscope, on a plusieurs fois constaté la présence de microbes qui semblaient identiques au bacille-Bordet dans l'expectoration d'enfants non atteints de la coqueluche; c'est ainsi que Fränkel l'a trouvé, mais peu nombreux, chez deux enfants atteints de tuberculose. Poleff a réussi à isoler et cultiver à l'état pur un microbe semblable au bacille-Bordet d'un cas de rougeole, mais la culture est morte avant d'avoir été examinée davantage, de sorte qu'on n'a pu constater son identité avec le bacille-Bordet.

La communication de Bordet et Gengou, sur la présence dans le sérum des convalescents de la coqueluche, d'anticorps

fixant le complément et d'agglutinines correspondant au bacille-Bordet, était de grand intérêt. Jusqu'à présent ces indications ne sont confirmées qu'en partie. Quant à l'agglutination une série de travaux ont montré qu'elle est essentiellement inconstante, et que d'autres bacilles semblables à celui de l'influenza sont aussi quelquefois agglutinés par le sérum coquelucheux, parfois à un titre plus élevé que le bacille Bordet (Wollstein, Finizio); quant aux anticorps fixant le complément on n'a fait que très peu d'expériences avec différents résultats. La plupart des expériences ont été faites par Arnheim qui, sur 15 épreuves de sérum, a trouvé 12 de positifs, tandis que les 27 sérums de Bacher et Menschikoff ont donné tous une réaction négative. Klimenko a examiné un seul cas qui a donné une réaction positive, Fränkel, 5 cas (1 +, 4 —), Seiffers, 1 cas (positif), Menschikoff, 2 cas (positifs), Poleff, 2 cas (négatifs), Finizio, 8 cas (6 +, 2 —), Schiza, 6 cas (5 +, 1 —) et Wollstein, 9 cas, tous négatifs.

Des tentatives pour provoquer la coqueluche expérimentale par une infection d'animaux faite avec une culture pure du bacille-Bordet ont été essayées par Klimenko, Wollstein, Fränkel, Inaba et Mallory, Hörner et Hendersen; leurs résultats joints à ceux de Fränkel et de Inaba confirment la supposition que le bacille-Bordet est le microbe spécifique de la coqueluche.

Tandis que le bacille de Bordet a été bien examiné et caractérisé par les recherches bactériologiques faites jusqu'à présent, de sorte qu'on ne peut en attendre de nouveaux résultats, les recherches bactérioscopiques faites à la clinique sur l'expectoration de la coqueluche semblent pourtant avoir été traitées d'une manière un peu injuste; ceci porte aussi au plus haut degré sur les expériences sérologiques faites à la clinique, qui ont été peu nombreuses et faites avec des méthodes techniques variables presque sans examens de contrôle, et qui ont donné des résultats contradictoires. Comme ces expériences sont d'une importance essentielle, sinon décisive quant à la question du rôle étiologique du bacille-Bordet dans la coqueluche, il y aura lieu de traiter cette question d'une manière plus complète et avec un plus grand matériel.

I

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

Tandis qu'on a fait déjà des recherches bactérioscopiques assez nombreuses mais détachées sur l'expectoration de la coqueluche, on ne trouve pas de recherches suivies sur les découvertes bactérioscopiques aux différents stades de l'affection avec un matériel relativement grand et avec la même technique de coloration. Par l'examen de 108 cas de coqueluche dans lesquels l'expectoration était prise autant que possible dans des circonstances analogues qui, d'après ma supposition, offraient une garantie assez bonne contre l'addition de salive, j'ai essayé de procurer une telle série.

Il résulte de l'examen que l'expectoration coquelucheuse aux premiers stades de l'affection contient presque constamment de nombreux petits microbes qui, d'après tout ce qu'on a pu constater, comptent probablement parmi ceux du groupe de l'Influenza.

Par des examens comparatifs de l'expectoration de malades atteints d'autres affections catarrhales des voies respiratoires surtout de la rougeole, de la bronchite accompagnant la scarlatine, de la laryngite et du croup, on voit que l'aspect des préparations bactérioscopiques n'est pas le même si ces préparations proviennent des maladies en question ou de la coqueluche, l'expectoration coquelucheuse se caractérisant par le nombre extraordinaire de microbes semblables à celui de l'influenza, en comparaison du reste de la flore, tandis que des formes analogues ne se trouvent pas du tout ou se trouvent seulement en petit nombre dans les maladies ci-dessus mentionnées.

Surtout dans la rougeole, dont la période catarrhale de l'incubation est la même que celle de la coqueluche, on a souvent trouvé dans l'expectoration des bacilles semblables à celui de l'influenza, mais — contrairement à ce qu'on trouve dans la coqueluche — en quantité beaucoup plus faible que celle du reste de la flore. J'ai donné toute mon attention à la période

de l'incubation, examinant dans 3 cas l'expectoration tous les jours, dès le 10^e jour au plus tard jusqu'à l'apparition de l'exanthème, sans jamais trouver de la ressemblance avec l'expectoration coquelucheuse.

Au début de la coqueluche l'expectoration est donc caractérisée par son contenu de petits bâtonnets semblables à ceux de l'influenza, ce qui nous donne un moyen presque suffisant de la distinguer de celle des maladies mentionnées. On trouvera à peine un aspect semblable des préparations microscopiques dans d'autres maladies, si ce n'est dans l'Influenza.

Quant à l'aspect des préparations aux différents stades de la coqueluche, on voit que l'apparition et le nombre des bâtonnets ressemblant à ceux de l'Influenza sont en rapport avec les semaines de la maladie. Bien que la présence des microbes mentionnés se constate le plus souvent pendant tout le cours de la maladie, c'est la règle qu'ils ne se montrent en grand nombre que jusqu'à la fin de la 3^e semaine du stade convulsif. A ce propos un seul cas est intéressant, les microbes caractéristiques se montrant de nouveau en grand nombre à l'occasion d'une réapparition du stade convulsif, 4 mois après la première infection, tandis que l'examen de l'expectoration avait donné pendant les temps précédents un résultat négatif (récidive?).

Dans 19 cas, on a fait l'ensemencement de l'expectoration coquelucheuse sur le milieu de gélose-sang de Bordet et on a réussi 5 fois à isoler le bacille-Bordet; dans presque tous les cas on a trouvé en outre des bacilles semblables à ceux de l'Influenza, ce qui peut expliquer le nombre relativement petit de résultats positifs des tentatives de culture, le bacille de Bordet se laissant cacher par les autres microbes et empêcher dans son développement par l'infection mélangée.

Pour contrôler on a fait des tentatives d'ensemencement avec l'expectoration de la rougeole par la méthode technique de Bordet, on a réussi à en isoler 3 souches semblables à celle de l'Influenza et non identiques au bacille de Bordet.

Le but des tentatives de culture a été avant tout d'isoler le bacille-Bordet, et par conséquent le matériel a été choisi relativement à celui-ci, les souches isolées des microbes ressemblant à celui de l'Influenza — abstraction faite du bacille-Bordet

— ne représentent donc pas les différentes espèces du groupe qui peuvent se rencontrer dans l'expectorat coquelucheux, mais ne représentent que quelques souches qui, pendant les premières générations, en culture et au microscope, ne se distinguent pas avec certitude du bacille de Bordet.

Quant à la microscopie et à la culture les souches cultivées à l'état pur forment trois groupes dont le premier contient le bacille-Bordet, le deuxième 17 des autres souches isolées de l'expectoration coquelucheuse. Celles-ci se comportent essentiellement comme les bacilles de l'Influenza. Le troisième groupe contient deux souches appelées dans ce qui suit la souche n° 74 et la souche « abcès » ; ces deux souches se placent sous plusieurs rapports entre les deux premiers groupes, bien qu'elles soient assez différentes entre elles.

L'examen bactériologique qui suit s'accorde tout à fait avec la description du bacille-Bordet par Bordet et Gengou, description dont les détails ont été ultérieurement approfondis par Klimenko dans une série de mémoires ; d'ailleurs on trouve dispersées dans la littérature beaucoup d'observations peu importantes et quelquefois contradictoires (Inaba, Wollstein, Arnheim et d'autres).

Le bacille de Bordet est un microbe ovoïde, de 1 μ de longueur et $1/3$ μ de largeur, dont la grandeur varie souvent, tandis que la forme est assez constante. Dans les préparations de cultures purifiées, les bacilles sont disséminés sans ordre, souvent deux par deux, bout à bout ; ils ne forment pas de fils ; dans un milieu liquide, quelquefois des chaînettes de 3 à 4 éléments, mais ils se disposent généralement en colonies. Quand on les cultive continuellement sur la gélose-sang de Bordet, ils diminuent de grandeur pour se présenter peu à peu comme de petits coccobacilles de 1 2 à $3/4$ μ de longueur ; si on leur fait subir un passage dans un milieu liquide, ils prennent de nouveau leur forme originaire.

Le bacille de Bordet est immobile ; il ne prend pas le Gram. Il se colore assez bien avec les couleurs ordinaires d'aniline, vigoureusement avec un bleu de méthylène alcalin (Löffler). Avec un bleu de toluidine phéniqué, le bacille-Bordet ne se teint que faiblement et d'une couleur lilas, propriété commune à la plupart des microbes hémophiles ; cette teinture (méta-

chromatique) n'est pas tout à fait constante; dans des cultures pures on trouve quelquefois des colonies d'un bleu net, appartenant aussi bien au bacille-Bordet qu'aux autres bacilles semblables à celui de l'influenza, circonstance sur laquelle Klimenko a déjà attiré l'attention.

Coloré avec le bleu de toluidine phéniqué, le bacille-Bordet ne se teint essentiellement que sur les contours et surtout aux extrémités, tandis que l'intérieur des microbes n'est teint que d'une couleur relativement faible. La coloration des extrémités se trouve aussi, bien que moins accentuée, si la teinture se fait avec une solution aqueuse d'un bleu de toluidine; si on emploie la fuchsine phéniquée (Gabbet) 1 — 20, elle n'est que très peu accentuée, quelquefois seulement après une différenciation prudente avec de l'alcool absolu, tandis que les bacilles se teignent d'une manière diffuse avec le bleu de méthylène de Löffler. La teinture élective des extrémités peut aussi faire défaut (Seiffert, Inaba), mais d'après mon expérience, ceci ne se voit que dans des cultures un peu âgées et qui ont été cultivées continuellement sur le milieu de gélose-sang de Bordet; la coloration des extrémités a été constante chez moi dans des cultures fraîches du milieu de gélose-sang de Bordet, ensemencé d'un milieu liquide.

Contrairement à Klimenko, je n'ai jamais observé des grains de Babes-Ernst.

Le bacille de Bordet demande une grande abondance d'oxygène. En culture, il désire la présence de l'hémoglobine, mais celle-ci n'est pourtant pas nécessaire; d'après Bordet et Jengou le bacille se développe aussi sur des milieux sans hémoglobine qui contiennent du liquide d'ascite, du sérum, etc. Odaira a cultivé une souche originale du professeur Bordet sur le milieu alcalin ordinaire de bouillon peptonisé et gélosé, et Klimenko a réussi plusieurs fois, grâce à une acclimatation graduelle (au bout de quelques mois), à faire pousser le bacille-Bordet sur de la gélose alcaline. Seulement une de mes souches a végété abondamment sur gélose-ascite après plusieurs ensemencements renouvelés, tandis que je n'ai pu la faire pousser sur la gélose ordinaire que pendant deux ou trois générations. Les autres quatre souches ont demandé nécessairement la présence du sang (l'une d'elles observée pendant 6 mois, l'autre pen-

dant 2-3 mois) et ce fut le même cas pour les 8 souches isolées par Fränkel. Le bacille-Bordet est donc essentiellement hémoglobophile, mais pour quelques souches on peut continuer la culture sur gélose-ascite sans hémoglobine, plus difficilement sur la gélose ordinaire. D'ailleurs mes souches se sont comportées complètement comme celles de M. Bordet.

Quant à la pathogénicité du bacille Bordet, par rapport aux animaux, mes expériences sont d'accord avec celles de Bordet et Gengou. La tentative de produire l'endotoxine d'après la méthode de Besredka a échoué, mais d'autre part j'ai réussi à constater l'existence de l'endotoxine par l'expérience suivante :

On a mis au repos pour se coaguler de l'exsudat péritonéal d'un cobaye tué par une injection intrapéritonéale d'un délayage épais du bacille-Bordet dans de l'eau salée à 0,9 p. 100; cet exsudat contenait un assez grand nombre de bacilles-Bordet; on a enlevé la substance coagulée, puis on a centrifugé. Le sérum ainsi dégagé a été aspiré au moyen d'une pipette. Le sérum était complètement clair et, examiné au microscope et en culture, il ne contenait pas de bactéries. Injecté dans le péritoine d'une souris blanche (1 cent. cube), il a provoqué la mort au bout de 24 heures. A l'autopsie on n'a trouvé qu'une quantité insignifiante de pétéchies sur le péritoine et très peu d'exsudat dans la cavité pleurale. L'exsudat péritonéal, dont la quantité était aussi insignifiante, était stérile, la séreuse non affectée. Une partie du sérum a été employée comme antigène dans une tentative de fixation du complément avec le sérum anti-Bordet. Les détails de la tentative sont indiqués ci-dessous :

| | |
|--|-----------|
| 1. Complément (1 + 9) | 0,2 c.c. |
| 2. Sérum de l'exsudat péritonéal (1 + 3) | 0,25 c.c. |
| 3. Sérum anti-Bordet (1 + 49) | 0,2 c.c. |
| 4. Sérum anti-abcès (1 + 49) | 0,2 c.c. |
| 5. Ambocepteur hémolytique | 0,15-100 |

Les chiffres en face des différents sérums indiquent la quantité du complément (sérum du cobaye 1 + 9) justement nécessaire pour l'hémolyse complète.

1 à 5 ont été laissés mélangés pendant 4 heures à la température ordinaire de la chambre, puis on a additionné de

l'ambocepteur hémolytique et du sang; le tout est resté en repos pendant 2 heures à 37°, puis on a lu le résultat de la tentative. *On a trouvé ainsi, dans le sérum dégagé de l'exsudat péritonéal coagulé, des substances spécifiques amenant la fixation du complément avec le sérum anti-Bordet* (échelle de l'hémoglobine : 5 = l'hémolyse complète, 0 = l'empêchement complet.

| I — COMPLÉ- MENT 1 + 9 | II — EXSUDAT PÉRI- TONÉAL 1 + 3 | III — SÉRUM ANTI- BORDET 1 + 49 | IV — SÉRUM ANTI- ABCÈS 1 + 49 | VI — AMBO- CEPTEUR 0,03 — 10 | VI — SANG 5 p. 100 | V — EAU SALÉE 0,9 p. 100 | HÉMOLYSE |
|------------------------------------|--|--|--|--|-----------------------------|--------------------------------------|----------|
| 0,25 c.c. | 0,0 c.c. | 0,2 c.c. | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | <i>ad</i> | 2 |
| 0,25 c.c. | 0,15 c.c. | 0,2 c.c. | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 2,5 c.c. | 2 |
| 0,25 c.c. | 0,1 c.c. | 0,2 c.c. | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 2 |
| 0,25 c.c. | 0,05 c.c. | 0,2 c.c. | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 4 |
| 0,25 c.c. | 0,2 c.c. | » | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 5 |
| 0,25 c.c. | 0,2 c.c. | » | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 5 |
| 0,2 c.c. | » | 0,2 c.c. | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 5 |
| 0,2 c.c. | » | » | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 5 |
| 0,2 c.c. | » | » | » | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | | 5 |

Pour éviter l'effet des toxines qui peuvent être produites, on a injecté une culture morte lavée à l'eau salée, stérilisée dans le péritoine d'un cobaye. L'animal est mort deux jours après. A l'autopsie, on a trouvé quelques hémorragies sous-séreuses en forme de points, tandis que le péritoine était d'ailleurs lisse et miroitant. Dans la cavité péritonéale on a trouvé un peu de liquide trouble qui au microscope contenait des leucocytes et des érythrocytes. Dans la cavité pleurale, l'exsudat était jaunâtre, pur, sans éléments figurés. En culture, le sang du cœur, l'exsudat péritonéal et l'exsudat pleural se sont montrés stériles.

On n'a pas réussi à constater l'existence de toxines dans un milieu de culture de bouillon-ascite glyceriné avec l'addition d'un peu d'hémoglobine. On a injecté dans le péritoine de chacun de 3 cobayes, 3 cent. cubes de cultures filtrées âgées respectivement de 2 jours, 7 jours et 15 jours, sans qu'on se

soit aperçu d'aucun effet. Une expérience semblable a été faite avec un extrait filtré de quelques cultures sur gélose-sang âgées de 4 ou 5 jours. L'extrait a été obtenu par un délayage des plaques de gélose arrosées de sang dans de l'eau salée et ensuite par centrifugation et filtration à travers des filtres de Berkefeldt. Dans cette expérience, le résultat a été aussi négatif.

De ces expériences, comparées avec les résultats des expérimentateurs précédents, il résulte que les lésions provoquées par les injections intrapéritonéales du bacille-Bordet sur les cobayes et sur les souris sont dues à un effet d'endotoxines, parce que : 1° l'émulsion de bacilles tués produit essentiellement le même effet, bien qu'un peu plus doux, que la culture vivante ; 2° on trouve, mises en liberté dans le sérum provenant de l'exsudat péritonéal coagulé des cobayes morts après une injection intrapéritonéale du bacille Bordet, des substances spécifiques amenant la fixation du complément avec le sérum anti-Bordet ; 3° l'effet que produit ce sérum péritonéal qui ne contient pas de bacilles est le même que celui produit par une émulsion de bacilles tués ; 4° des extraits filtrés sans bacilles de cultures dans bouillon-ascite glycérimé ainsi que sur gélose-sang ne produisent pas d'effets sensibles chez le cobaye, même à des doses relativement fortes.

Des tentatives pour provoquer la coqueluche expérimentale ont échoué, malgré l'emploi d'un matériel assez grand (18 jeunes chiens et 6 petits chats) et bien que ces tentatives aient été faites dans différentes circonstances.

GROUPE I.

La plus grande partie des souches isolées de l'expectoration coquelucheuse appartiennent à ce groupe, c'est-à-dire les souches n^{os} 15, 24, 28, 31, 33, 70, 72, 76, 80, 84, 85, 91, 97, 101, 102, 114 et 131, en somme 17. Les souches de ce groupe semblent correspondre essentiellement au *Bac. pertussis* Eppendorf de Jochmann et Krause.

Au sujet de la morphologie et de la teinture, ces bacilles ressemblent également au bacille de Bordet ; dans des cultures

un peu âgées ils ont pourtant une tendance au pléomorphisme, et ils forment des chaînettes et des fils courts.

Sur un milieu constitué de parties égales de bouillon peptonisé et gélosé et de sang, ces bacilles forment déjà pendant la première génération, après un repos de 24 heures à une température de 37°, des colonies d'une grandeur de 1 millimètre au plus, qui ressemblent à des gouttes de rosée; au microscope, ces colonies sont homogènes ou finement granulées; elles s'agrandissent en restant longtemps au thermostat à 37°, et elles montrent une tendance à confluenter.

Dans les cultures pures la végétation est assez mince, d'une consistance dense, gris foncé, un peu opaque et hémolysante. L'hémoglobine se réduit, c'est-à-dire noircit pendant la croissance des microbes.

Sur le milieu de gélose-sang de Bordet, la culture pousse beaucoup plus péniblement que sur le milieu ci-dessus désigné.

Sur gélose-ascite, la végétation est, pendant la première génération, peu abondante, légèrement irisée; mais la culture ne se continue pas sur un milieu sans hémoglobine.

Dans du bouillon à l'hémoglobine, la culture est abondante et diffuse dans les couches supérieures du milieu; au fond du tube on trouve un dépôt un peu floconneux qui se disperse facilement. Anaérobiquement, on n'obtient qu'une végétation faible ou nulle.

Très souvent, ces bactéries perdent leur énergie de croissance; la souche s'éteint malgré plusieurs repiquages.

En tout cas, ces bacilles ont une vitalité beaucoup plus faible que celle des bacilles mentionnés plus haut. Il faut les repiquer tous les 8 jours au moins, quelquefois plus souvent, pour être sûr d'avoir une végétation.

Quelques-unes de ces souches (les n°s 76, 85, 91, 131) sont injectées — délayées dans de l'eau salée physiologique — dans les veines de quelques lapins. Leur tolérance, par rapport aux injections, a varié un peu. Quelques animaux sont morts peu de temps après l'injection (au bout de 24 heures). A l'autopsie on n'a trouvé que quelque épanchement de sang dans les organes de l'abdomen. Le sang du cœur était stérile. Le lapin traité par la souche n° 91 a été très épuisé après la deuxième injection faite 5 jours après la première. Le sérum, pris 7 jours

après le dernier traitement, a montré un titre assez élevé pour les anticorps fixant le complément, contrairement à ce qui est autrement le cas pour le sérum des animaux traités par ces bacilles pendant si peu de temps (Wollstein).

Les cobayes se sont montrés insensibles aux injections intrapéritonéales de ces souches.

GROUPE II.

1. La souche « *abcès* » a été cultivée à l'état pur d'un abcès rétropharyngé chez un enfant récemment guéri de la coqueluche; on a trouvé le bacille presque à l'état pur dans le pus évacué. Cette souche se caractérise à l'égard de la culture et de la morphologie comme appartenant au groupe de l'Influenza, l'effet qu'elle produit chez les cobayes ressemble à celui du bacille-Bordet, et le bacille s'agglutine sous l'influence du sérum anti-Bordet. Ces bacilles ont 1 μ . de longueur, 1/4 μ . de largeur, ils sont sveltes et immobiles, en culture pure disposés en forme de palissades; ils ne prennent pas le Gram et se colorent bien avec les couleurs ordinaires d'aniline; avec le bleu de toluidine phéniqué ils se teignent d'une couleur violette mais assez faible, le plus souvent d'une manière diffuse; quelquefois, on rencontre pourtant des exemplaires teints nettement aux extrémités, surtout dans des cultures toutes fraîches (pas encore âgées de 24 heures) et dans des milieux liquides. Ces bacilles ne forment pas de chaînettes ou de fils, et ils ne montrent aucune tendance au pléomorphisme; dans des milieux liquides ils forment souvent de petits coccobacilles courts, pour reprendre la forme originale après être repiqués sur un milieu de gélose-sang.

Le bacille est aérobie; pourtant on obtient souvent une végétation faible, si on le cultive anaérobiquement sur gélose-sang inclinée dans des tubes de Buchner qui contiennent une solution pyrogallique alcaline.

Sur un milieu alcalin constitué de parties égales de bouillon peptonisé et gélosé et de sang, le bacille forme, déjà pendant la première génération, des colonies abondantes qui sont au commencement claires et ressemblent à des gouttes de rosée, mais

qui deviennent plus tard grisâtres et opaques. Au microscope on nê peut distinguer les jeunes colonies des colonies de l'influenza. La végétation est d'ailleurs luxuriante, gris-blanc, épaisse, un peu humide et luisante et cause une réduction forte de l'hémoglobine. La culture est un peu hémolysante.

Sur gélose-ascite le microbe s'est développé abondamment après deux ou trois réensemencements. La culture est ici gris-blanc, opalescente.

Sur le milieu ordinaire de bouillon peptonisé et gélosé la culture ne s'est pas développée.

Dans du bouillon à l'ascite, la culture a été abondante, diffuse avec un dépôt floconneux.

Sur la gélose au sang inclinée la culture a eu une forte vitalité; un réensemencement fait au bout de six semaines a donné une riche végétation.

Injectée dans les veines d'un lapin, la culture n'a provoqué aucun symptôme morbide.

Injectée à dose forte dans le péritoine des cobayes elle a provoqué la mort au bout de 24 heures. A l'autopsie on a trouvé les mêmes altérations que celles produites par une injection du bacille-Bordet, seulement plus accentuées.

Comme on voit des recherches précédentes, il se rencontre dans l'expectoration coquelucheuse des bacilles semblables à celui de l'influenza et qui, ni à l'égard de la culture, ni à l'égard de la morphologie des jeunes cultures, ne se distinguent du bacille-Bordet.

2. *La souche n° 74* a été cultivée à l'état pur d'un malade ayant eu la coqueluche, il y avait un an, et qui est entré à l'hôpital pour la scarlatine. Dès l'entrée le malade eut quelques faibles accès de toux, surtout pendant la nuit; au bout d'une semaine les quintes devinrent typiques. Au microscope l'expectoration contenait quelques diplocoques et de petits bacilles assez nombreux teints quelquefois seulement aux extrémités, d'autres fois d'une manière diffuse, ou si on avait employé le bleu de toluidine phéniqué, d'une manière métachromatique. En culture on a trouvé surtout des streptocoques et la souche dont il s'agit ici.

Examinées au microscope, les cultures jeunes (24 heures) de

cette souche sont, quant à la morphologie et à la teinture, complètement analogues à celles du bacille-Bordet; au bout de quelques jours des grains de Babes-Ernst ont paru aux extrémités et les bacilles ont commencé d'offrir des formes d'involution : formes en fuseau aux bouts allongés ou formes en massue; souvent ils formaient des chaînettes de 3 à 6 éléments de grands microbes enflés où seulement les contours et les extrémités sont colorés tandis que la forme est celle du type originaire; peu à peu la culture prend microscopiquement un aspect qui ne correspond nullement à celui de la culture originaire. Après être repiqué sur un milieu frais, le bacille prend de nouveau sa forme primitive.

Le bacille est d'ailleurs rigoureusement aérobic, immobile et demande nécessairement la présence du sang.

Sur un milieu de parties égales de bouillon peptonisé et gélosé et de sang, le bacille forme des colonies fines, fortement luisantes qui au microscope sont rondes, plutôt homogènes et fortement réfringentes; les colonies n'ont aucune tendance à confluer. La croissance se fait lentement. Après un séjour de 2 ou 3 jours au thermostat à 37° il se forme, — si la semence a été abondante, — un voile mince, grisâtre et diaphane, quelquefois finement granuleux dont l'étendue n'augmente pas. Sur un milieu humide la culture est plutôt d'une consistance épaisse, mais elle dessèche rapidement et devient solide, adhérente au milieu, de sorte qu'on ne peut la prélever sans emmener aussi la couche supérieure du milieu. La culture est légèrement hémolysante et ne réduit pas l'hémoglobine. Quant à l'aspect la culture rappelle beaucoup celle du bacille-Bordet sur un milieu de gélose arrosée de sang humain, tandis que cette dernière culture est plus blanche et bien plus abondante sur de la gélose arrosée de sang de lapin.

Sur le milieu de gélose-sang de Bordet la culture est beaucoup moins abondante que sur le milieu ci-dessus nommé.

Sur un milieu de gélose-sang inclinée avec de l'eau de condensation en abondance, la culture reste plus épaisse, la végétation devient plus abondante et elle se laisse prélever plus facilement du milieu.

Dans du bouillon à l'hémoglobine, la culture est diffuse dans les couches supérieures du milieu avec un dépôt floconneux

qui se disperse facilement. Une addition de liquide d'ascite rend la culture plus riche. La réaction du substratum ne se change pas.

Sur un milieu de gélose-sang inclinée, laissé à la température ordinaire du laboratoire, la culture peut vivre pendant un mois à peu près.

Une injection intraveineuse d'un délayage dans une solution d'eau salée à 0,9 p. 100 a été bien supportée par les lapins et n'a pas causé d'amaigrissement.

Une injection intrapéritonéale de la culture sur des cobayes n'a pas provoqué de symptômes morbides.

La présence de toxines dans la culture filtrée n'a pas été constatée.

Les méthodes sérologiques, essayées comme moyens de différenciation des espèces de bactéries mentionnées ci-dessus, sont la méthode de la fixation du complément et l'agglutination. Les microbes qu'on a examinés sérologiquement sont le bacille Bordet, la souche n° 74, la souche « abcès » et, parmi les autres bacilles ressemblant au microbe de l'influenza, les souches n°s 76, 85, 91 et 131 qui, en culture et au microscope, semblaient identiques; d'ailleurs on a examiné aussi une souche de l'influenza cultivée à l'état pur d'un cas de rougeole.

Quant aux détails techniques de la pratique des réactions de fixation, il faut consulter le chapitre suivant.

Les différents sérums antimicrobiens se préparent par une injection intraveineuse, sur des lapins, d'une émulsion de culture poussée sur gélose-sang, dans de l'eau salée physiologique. En préparant les sérums antimicrobiens on a spécialement pris en considération leur contenu d'anticorps qui provoquent la fixation du complément; leur titre dans le sérum, ainsi que la tolérance de l'animal à l'égard des injections, ont décidé du moment de la suspension du traitement.

Les résultats des expériences sont cités dans le tableau I. Les réactions positives avec la souche homologue sont en chiffres gras, tandis que les réactions positives avec les souches hétérologues sont en chiffres italiques (échelle de l'hémoglobine : 5 = l'hémolyse complète, 0 = l'empêchement complet).

| DILUTION du SÉRUM | SOUCHÉ | | | | | | | | CONTROLE du SÉRUM |
|--------------------------|-------------|----|----|----|-----|----|-------|---------------|-------------------------|
| | Bor- det | 74 | 91 | 85 | 131 | 76 | abcès | rou- geole | |
| Sérum anti-76. | | | | | | | | | |
| 1 : 10 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 5 | 4 |
| 1 : 20 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 1 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 50 | 4 | 5 | 5 | 4 | 3 | 1 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 100 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 200 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 400 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 500 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Sérum anti « Abcès ». | | | | | | | | | |
| 1 : 10 | 3 | 4 | 4 | 4 | 2 | 3 | 1 | 4 | 4 |
| 1 : 20 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 2 | 2 | 5 | 5 |
| 1 : 50 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 1 | 5 | 5 |
| 1 : 100 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 |
| 1 : 200 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2 | 5 | 5 |
| 1 : 400 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 5 |
| 1 : 500 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Sérum anti « Rougeole ». | | | | | | | | | |
| 1 : 10 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 5 | 1 | 5 |
| 1 : 20 | 3 | 4 | 4 | 5 | 3 | 3 | 5 | 2 | 5 |
| 1 : 50 | 3 | 5 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 |
| 1 : 100 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 |
| 1 : 200 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 1 : 400 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 1 : 500 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

Titration des agglutinines.

| SÉRUM antimicrobien | SOUCHÉ | | | | | |
|------------------------|----------|--------|--------|-----|-----|----------|
| | Bordet | 74 | abcès | 91 | 85 | rougeole |
| Bordet | 10.000 | 0 | 400 | 0 | 25 | 0 |
| | 20.000 ? | | | | | |
| 74 | 25 | 10.000 | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Abcès | | 0 | 10.000 | 0 | 0 | 0 |
| 91 | 0 | 0 | 0 | 400 | 400 | 0 |
| 131 | 800 | 0 | 0 | 25 | 0 | 50 |
| 76 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 |
| Rougeole | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 000 |

Les titres de l'agglutination avec la souche homologue sont indiqués en chiffres gras.

Les expériences ont été faites avec une quantité constante de l'antigène et des quantités décroissantes des sérums antimicrobiens. Outre le titrage du complément et de l'ambocepteur hémolytique, on a fait dans les expériences préliminaires le titrage de l'action anticomplémentaire des antigènes employés dans l'expérience définitive. Dans l'expérience définitive on a fait aussi le contrôle du complément, de l'antigène et du sérum. Comme système hémolytique on a employé des globules de sang de mouton, de l'ambocepteur de lapin, du complément de cobaye. Les antigènes employés ont été des cultures sur gélose-sang, âgées de 48 heures, délayées dans de l'eau salée physiologique et centrifugées pour rendre les délayages aussi homogènes que possible. Les cultures sont prélevées du milieu en raclant la gélose sans en entamer la surface. La quantité totale des liquides employés dans les expériences a été 2 c. c. 5 dont 0 c. c. 2 d'antigène, 0 c. c. 2 de dilution de sérum antimicrobien, 0 c. c. 5 de délayage de globules de mouton à 5 p. 100 et 0 c. c. 5 de dilution d'ambocepteur hémolytique. La durée de la fixation a été de 4 heures à la température ordinaire de la chambre, ainsi que Bordet l'a indiqué pour la constatation de l'existence, dans le sérum des convalescents de la coqueluche, d'anticorps amenant la fixation du complément et correspondant au bacille-Bordet; après l'addition de l'ambocepteur hémolytique et de l'émulsion du sang, le mélange a été laissé pendant 2 heures à une température de 37°, puis centrifugation et lecture faite en comparant avec une échelle de l'hémoglobine correspondante à celle indiquée par Boas pour la réaction de Wassermann; j'ai pourtant choisi d'autres désignations, c'est-à-dire 5 correspondant au 100 de Boas, 4 au 80, 3 au 60, 2 au 40, et 1 au 20. Pour les deux souches n° 76 et n° 131, on n'a pas pu se servir de l'épreuve de l'agglutination à cause de l'agglutination spontanée de celles-ci.

Par le résultat de ces expériences on a réussi à distinguer sérologiquement entre la plupart des souches examinées; seulement les n° 85 et 91 se sont montrés identiques quant à la microscopie, à la culture et à la biologie.

La souche n° 131 a été plus difficile à déterminer; comme elle agglutinait spontanément on ne pouvait l'employer dans des tentatives d'agglutination, tandis qu'au titrage des anti-

corps fixant le complément dans le sérum anti-91, elle a donné le même résultat que la souche homologue et la souche n° 85. Le sérum anti-131 a montré le même titre pour les anticorps, fixant le complément avec la souche homologue, la souche n° 85 et le bacille-Bordet; ceci s'est répété en partie dans la tentative de l'agglutination avec ce même sérum antimicrobien, ce dernier agglutinant, dilué jusqu'à 1-800, le bacille-Bordet, dilué jusqu'à 1-25, la souche n° 91, tandis que la souche n° 85 ne s'est pas agglutinée. D'après ces résultats, on peut difficilement supposer que la souche n° 131 soit identique aux souches n°s 91 et 85; elle se distingue du bacille-Bordet non seulement en culture, mais aussi sérologiquement, le sérum anti-Bordet ne montrant avec cette souche qu'un titre très bas pour les anticorps fixant le complément, tandis qu'avec la souche homologue ce titre était assez élevé.

Une série semblable de recherches a été faite par Odaira; dans ses tentatives d'agglutination et de fixation du complément, le bacille-Bordet s'est distingué également de plusieurs autres bacilles du groupe de l'influenza; mais, tandis que dans les tentatives d'Odaira la méthode de la fixation du complément et l'épreuve de l'agglutination ont montré à peu près la même spécificité, la spécificité a été dans mes tentatives beaucoup plus quantitative pour les anticorps fixant le complément que pour les agglutinines. Au titrage des anticorps fixant le complément dans les différents sérums antimicrobiens avec les souches de microbes ci-dessus nommées comme antigènes, le résultat a été une réaction de groupes dans les concentrations fortes de sérum, et, seulement dans les concentrations faibles de sérum, une réaction spécifique; avec les sérums ayant le titre bas, le résultat du titrage a été aussi une réaction de groupes, de sorte que la réaction de la fixation du complément était, dans de tels cas, à peu près sans valeur comme méthode de différenciation, les titres étant presque les mêmes pour les anticorps spécifiques que pour les anticorps communs.

L'agglutination a donné ainsi un résultat plus spécifique que la réaction de la fixation du complément, mais il faut se souvenir que Bordet a démontré que les bacilles-Bordet de la même souche, mais cultivés partie sur un milieu arrosé de sang, partie sur un milieu non arrosé de sang se sont montrés

biologiquement différents quant à l'agglutination — le sérum antimicrobien préparé avec des bacilles cultivés sur un milieu au sang n'agglutinant pas les bacilles cultivés sur un milieu de gélose-ascite et inversement — tandis que les anticorps amenant la fixation du complément étaient les mêmes pour les deux sortes de culture. La réaction de fixation peut former ainsi quelquefois un supplément nécessaire à l'épreuve de l'agglutination.

On peut donc rencontrer dans l'expectoration de la coqueluche différentes espèces de bacilles ovoïdes ressemblant à celui de l'Influenza et qui, au sujet de la morphologie et de la teinture, ne se distinguent pas avec certitude les uns des autres; au sujet de la culture on distingue plusieurs groupes dans lesquels on peut différencier sérologiquement plusieurs espèces. Le bacille-Bordet est une de ces espèces; par ses réactions sérologiques il se distingue nettement des autres bacilles, tandis qu'il n'est spécifique ni au sujet de la morphologie, de la teinture et de la culture, ni au sujet de l'effet que produisent ses toxines chez les cobayes.

Comme résultat définitif de ces recherches, il résulte que le bacille-Bordet, pour ce qui concerne la culture et la teinture, se distingue nettement de la plupart des souches examinées de l'Influenza. Pourtant j'ai trouvé quelques souches qui formaient, pour ainsi dire, la transition de l'un de ces deux groupes à l'autre. La souche n° 74 s'est montrée au sujet de la culture et de la teinture presque analogue au bacille-Bordet, tandis que dans les expériences sérologiques il s'est constaté entre eux une différence nette, mais pourtant cette souche s'approchait plus du bacille-Bordet que les autres souches de l'Influenza, même à l'égard de la sérologie. C'est le contraire pour la souche « Abcès »; celle-ci s'est distinguée en culture nettement du bacille-Bordet et dans les tentatives de la fixation du complément elle a montré également une différence nette; par contre, elle s'est agglutinée assez fortement sous l'influence du sérum anti-Bordet, de même qu'elle s'est comportée complètement comme le bacille-Bordet à l'égard de la pathogénité par rapport aux animaux, contrastant ainsi avec les autres souches de l'Influenza.

II

RECHERCHES SÉROLOGIQUES CLINIQUES

I. — *Recherches sur la présence d'anticorps amenant la fixation du complément dans le sang de convalescents de la coqueluche et de malades qui, d'après les renseignements fournis, ont été ou n'ont pas été atteints de la coqueluche ; le bacille-Bordet ou d'autres bacilles semblables à ceux de l'Influenza, qui ont été cultivés à l'état pur de l'expectoration coquelucheuse, ont servi d'antigène.*

Comme nous avons déjà dit, on n'a fait que très peu de ces recherches, et les résultats de celles-ci ont beaucoup varié. On pourrait attribuer ces variations aux différences de la méthode technique. Toutes les expériences dont on a indiqué la technique sont faites d'après les indications de Bordet avec une culture de microbes délayée dans de l'eau salée comme antigène et avec une durée de fixation de 4 heures à la température ordinaire du laboratoire ; les quantités de complément qu'on a employées ont un peu varié et ne semblent pas être dues au résultat d'un titrage exact. Bächer et Menschikoff, ainsi que Weil et Netter, ont fait le titrage du complément ; les premiers de ces auteurs l'ont employé en quantité de 2 fois la dose amenant justement l'hémolyse complète ; le résultat négatif de ces expériences (27 sérums qui ont donné tous un résultat négatif) pourrait être dû ainsi à un excès de complément. Poleff a employé une émulsion microbienne fortement diluée pour neutraliser son action anticomplémentaire, ce qui pourrait aussi avoir de l'influence sur le résultat de la réaction.

Dans mes expériences hémolytiques, j'ai employé une émulsion à 5 p. 100 de globules de mouton lavés, de l'amborepteur de lapin et du complément de cobaye. Comme l'a indiqué Boas pour la réaction de Wassermann, le complément, l'amborepteur hémolytique ainsi que l'action anticomplémentaire de l'antigène ont été titrés avant chaque expérience.

La préparation de l'émulsion microbienne peut offrir quelques difficultés, l'émulsion ayant souvent toute seule un

pouvoir empêchant. Dans de tels cas l'émulsion ne peut être employée que tellement diluée qu'elle devient inapplicable comme antigène; surtout les émulsions préparées comme l'a indiqué Bordet, par un lavage à l'eau salée de cultures poussées sur gélose-sang inclinée et âgées de 2 à 3 jours, se sont montrées souvent fortement anticomplémentaires. Les émulsions se préparent le mieux en raclant des cultures développées sur gélose-sang dans des boîtes de Petri et âgées de 2 à 3 jours. Il faut que la culture soit abondante et si humide qu'elle se détache facilement de la surface du milieu quand on la prélève. La culture prélevée, qui doit être plutôt d'une couleur blanche pure et qui autant que possible ne doit pas contenir de particules du milieu nutritif, est délayée dans de l'eau physiologique, de sorte qu'il se forme une émulsion épaisse, autant que possible homogène; on centrifuge celle-ci pour en séparer les flocons, etc; l'émulsion homogène préparée comme ci-dessus est aspirée au moyen d'une pipette et diluée jusqu'à l'opacité convenable. Dans mes expériences j'ai employé une émulsion dont l'opacité correspond à celle d'une dilution de lait à 1 : 200. Cette mesure est assez inexacte et se fait trop au jugé, mais elle est facile à employer et elle est utilisable. Une émulsion préparée de cette manière aura le plus souvent un pouvoir empêchant, mais celui-ci est pourtant assez limité; à la dose employée de 0 c.c. 2 l'action anti-complémentaire correspondait à environ 0 c.c. 005 à 0 c.c. 01 de complément. Pour juger de la plus faible richesse de l'émulsion avec laquelle il soit possible de travailler, si on veut avoir une réaction nette, j'ai tenté des émulsions de différentes concentrations vis-à-vis de l'immunsérum. Ce sérum a été employé dans une dilution qui s'approchait de la limite inférieure du titre, parce que pratiquement il s'agit surtout de juger de la plus faible richesse qu'on puisse donner à une émulsion microbienne pour avoir une réaction nette, avec un sérum contenant peu d'anticorps fixant le complément. Dans toutes mes expériences j'ai employé 0 c.c. 2 d'émulsion microbienne et 0 c.c. 4 de dilution de l'immunsérum. L'épaisseur des émulsions microbiennes correspondait à une dilution dans le lait à 1 : 200, 1 : 400, 1 : 600. Le résultat a été ce qui suit :

| DILUTION DE L'IMMUNOSÉRUM 1 : 100 | | DILUTION DE L'IMMUNOSÉRUM 1 : 200 | |
|-----------------------------------|----------|-----------------------------------|----------|
| CONCENTRATION de L'ÉMULSION | HÉMOLYSE | CONCENTRATION de L'ÉMULSION | HÉMOLYSE |
| 1 : 200 | 45 | 1 : 200 | 60 |
| 1 : 400 | 100 | 1 : 400 | 100 |
| 1 : 600 | 100 | 1 : 600 | 100 |

L'hémolyse a été déterminée d'après une échelle d'hémoglobine correspondante à celle indiquée par Boas pour la réaction de Wassermann (100 = hémolyse complète, 0 = empêchement complet). C'est en vertu de ceci que j'ai choisi pour mes expériences l'émulsion de 1 : 200, cette émulsion ne montrant qu'une action anticomplémentaire insignifiante ou nulle, en même temps qu'elle était suffisamment sensible vis-à-vis de l'immunosérum.

Le temps qu'il faut employer, pour que la combinaison du complément, des anticorps et de l'antigène-se fasse, est indiqué par Bordet de 4 heures à la température ordinaire du laboratoire. Dans mes expériences j'ai suivi cette indication qui est celle qu'on suit, en général, dans des recherches de cette sorte. Pour examiner pourtant la possibilité d'une réaction plus forte en laissant la combinaison se faire tantôt à la température du laboratoire, tantôt à 37°, j'ai fait quelques expériences employant les durées de fixation et les températures ci-dessous précisées :

| | | | |
|---------------|---|---|---------------|
| I. 0 heure | } à la chaleur ordinaire du laboratoire | { | 1 heure à 37° |
| II. 1 heure | | | 1 heure à 37° |
| III. 2 heures | | | 1 heure à 37° |
| IV. 3 heures | | | 1 heure à 37° |
| V. 4 heures | | | 0 heure à 37° |

Le résultat a été :

| IMMUNOSÉRUM 0,05 — 10 | I | II | III | IV | V |
|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Dont : 0 c.c. 2 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| — 0 c.c. 15 | 10 | 15 | 10 | 10 | 10 |
| — 0 c.c. 1 | 45 | 35 | 20 | 20 | 35 |
| — 0 c.c. 0,05 | 90 | 90 | 80 | 80 | 80 |
| Contrôle du complément | 100 | 100 | 100 | 90 | 100 |
| Contrôle de l'antigène | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Contrôle du sérum | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Une autre expérience avec une autre sorte d'immunsérum, mais pratiquée d'ailleurs comme celle nommée ci-dessus, a montré :

| IMMUNSÉRUM 0.05 — 10 | I | II | III | IV | V |
|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Dont : 0 c.c. 3 | 80 | 55 | 50 | 55 | 60 |
| — 0 c.c. 025 | 80 | 90 | 70 | 70 | 70 |
| — 0 c.c. 01. | 100 | 100 | 100 | 80 | 100 |
| Contrôle du complément | 100 | 100 | 100 | 100 | 90 |
| Contrôle de l'antigène | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Contrôle du sérum | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Il apparaît ainsi que les expériences désignées sous III, IV et V ont donné à peu près les mêmes résultats, tandis que les résultats sous II ont été plutôt plus faibles et ceux sous I absolument plus faibles que les autres. J'ai donc choisi la technique de Bordet.

La méthode employée pour toutes les réactions de la fixation du complément mentionnées dans la suite a donc été celle de l'exemple suivant :

EXPÉRIENCE PRÉLIMINAIRE I : Titrage du complément.

| COMPLÉMENT 1 + 9 | EAU SALÉE ,9 | AMBOCEPTEUR 0,6 — 100 | SANG 5 p. 100 | HÉMOLYSE |
|---------------------|-----------------|--------------------------|------------------|----------|
| 0,35 c.c. | 1,15 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,3 c.c. | 1,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,25 c.c. | 1,25 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,2 c.c. | 1,3 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 80 |
| 0,15 c.c. | 1,35 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 45 |

Le complément et l'eau salée mélangés sont laissés pendant 4 heures à la température ordinaire de la chambre ; on ajoute l'ambocepteur et le sang, et le tout est abandonné au repos pendant 1 heure à 37° ; puis on fait la lecture :

EXPÉRIENCE PRÉLIMINAIRE II : Titrage du pouvoir empêchant de l'antigène.

| COMPLÉMENT 1 + 9 | EAU SALÉE 0,9 | ANTIGÈNE | AMBOCEPTEUR 0,6 — 100 | SANG 5 p. 100 | HÉMOLYSE |
|---------------------|------------------|----------|--------------------------|------------------|----------|
| 0,5 c.c. | 0,8 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,45 c.c. | 0,85 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,4 c.c. | 0,9 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,35 c.c. | 0,95 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,3 c.c. | 1,00 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 90 |
| 0,25 c.c. | 1,05 c.c. | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 60 |

Le complément + l'eau salée + l'antigène restent mélangés pendant 4 heures à la température ordinaire de la chambre, d'ailleurs comme dans l'expérience I.

EXPÉRIENCE PRÉLIMINAIRE III : Titrage de l'ambocepteur.

| COMPLÉMENT 1 + 9 | EAU SALÉE 0,9 | AMBOCEPTEUR 0,3 — 100 | SANG 5 p. 100 | HÉMOLYSE |
|---------------------|------------------|--------------------------|------------------|----------|
| 0,5 c.c. | 1,0 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 100 |
| 0,5 c.c. | 1,1 c.c. | 0,4 c.c. | 0,5 c.c. | 90 |
| 0,5 c.c. | 1,2 c.c. | 0,3 c.c. | 0,5 c.c. | 40 |

Le mélange est laissé au repos pendant 1 heure à 37°.

EXPÉRIENCE DÉFINITIVE (avec 6 sortes de différents sérums de malades et 1 immunsérum spécifique) : on emploie, comme antigène, une émulsion de bacille-Bordet.

| T (1 + 9) | EAU SALÉE (0,9 p. 100) | SÉRUM de malades INACTIF | ANTIGÈNE | AMBO- CEPTEUR 0,6 — 100 | SANG 5 p. 100 | HÉMOLYSE |
|--------------|---------------------------------|--------------------------------|----------|-------------------------------|------------------|----------|
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2I | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2II | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 4 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2III | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2IV | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 4 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2V | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2VI | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 4 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2VII | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2VIII | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 4 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0 2Immuns | 0,2 c.c. | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 0 |
| 0,35 c.c. | 0,75 c.c. | 0,2I—VIII—Imm. | | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,25 c.c. | 1,05 c.c. | | | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,25 c.c. | 1,25 c.c. | | | 0,5 c.c. | 0,5 c.c. | 5 |
| 0,35 c.c. | 0,95 c.c. | | 0,2 c.c. | | 0,5 c.c. | 5 |

(Sér. III et IV 4—5)

On laisse reposer le complément + l'eau salée + le sérum de malades + l'antigène, le tout mélangé, pendant 4 heures à la température ordinaire de la chambre; puis on ajoute l'ambocepteur hémolytique et la suspension du sang et on laisse le mélange 2 heures à 37°; au bout de ces 2 heures on centrifuge et on détermine le degré de l'hémolyse en comparant avec une échelle de l'hémoglobine qui correspond complètement à celle employée par Boas pour déterminer la réaction de Wassermann. Pour faciliter la connaissance des résultats des expériences, j'ai employé d'autres désignations, à savoir les chiffres : 5, 4, 3, 2, 1, 0 correspondant à 100, 80, 60, 40, 20 de l'échelle de Boas; de cette manière la lecture devient un peu moins détaillée, mais pourtant assez exacte pour des expériences de cette sorte. La limite entre la réaction positive et la réaction négative est placée entre l'hémolyse 3 et 4, de sorte que les chiffres 3, 2, 1, 0 indiquent la réaction positive, et les chiffres 4, 5 la réaction négative, l'empêchement 4 pouvant se voir quelquefois avec le sérum de malades qui n'ont pas eu la coqueluche et aussi dans les tubes de contrôle, peut-être à cause d'erreurs dans les expériences.

Le sérum de malades employé est rendu inactif par le chauffage à 56° pendant une demi-heure.

Le contrôle a été obtenu par : 1° la répétition de l'expérience préliminaire I avec la dose la plus faible du complément qui puisse amener l'hémolyse complète, pour être sûr que le système hémolytique soit en ordre; 2° le contrôle de l'antigène pour se garantir d'un empêchement possible de l'hémolyse par l'antigène seul; 3° le contrôle du sérum pour être sûr que la dose employée du sérum de malade ne puisse amener elle seule l'empêchement de l'hémolyse; il faut que ces trois tubes de contrôle marquent tous l'hémolyse 5 (l'hémolyse complète); 4° une expérience de fixation faite avec un tube qui au lieu du sérum de malade contient de l'immunsérum spécifique; il faut que ce tube marque un empêchement de l'hémolyse. Autant que possible on a d'ailleurs examiné en même temps le sérum de malades atteints et celui de malades non atteints de la coqueluche.

Dans l'exemple mentionné ci-dessus, les résultats ont été ceux qui suivent :

Sérum de malade. — N° I. I... J..., deux ans, entré à l'hôpital le 12 novembre 1913; cas de contrôle n° 9 (tableau III). Scarlatine sans complications pendant 4 semaines. Pas de coqueluche; réaction de fixation négative avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° II. E... H..., cinq ans, entré le 12 novembre 1913; n° 106 (tableau II). Coqueluche au 2^e mois compliquée de pneumonie. Réaction de fixation positive avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° III. P... J..., quatre mois, entré le 23 novembre 1913; n° 102 (tableau II). Coqueluche à la 2^e semaine du stade convulsif. Réaction de fixation négative avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° IV. R... H..., vingt et un mois, entré le 4 novembre 1913; cas de contrôle n° 10 (tableau III). Scarlatine (?) à la 5^e semaine; pas de coqueluche. Réaction de fixation négative avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° V. C... S..., quatre ans et demi; entré le 10 novembre 1913; cas de contrôle n° 11 (tableau III). Scarlatine à la 5^e semaine. Pas de coqueluche. Réaction de fixation négative avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° VI. Fr... L..., six mois; entré le 18 novembre, n° 101 (tableau II). Coqueluche à la 3^e semaine du stade convulsif compliquée de gastro-entérite. Réaction de fixation positive avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° VII. Non baptisé, six mois (sorti de l'hôpital municipal, service III, le 6 décembre 1913), n° 38 (tableau II). Coqueluche au début. Réaction de fixation négative avec le bacille-Bordet.

Sérum de malade. — N° VIII. E... F..., deux ans, entré le 11 octobre 1913, n° 105 (tableau II). Coqueluche au 3^e mois du stade convulsif compliquée de tuberculose. Réaction de fixation positive avec le bacille-Bordet.

Dans ces expériences il s'est donc montré que le sérum de trois malades atteints de la scarlatine, et qui, d'après les renseignements fournis, n'avaient pas eu la coqueluche, n'a amené aucun empêchement de l'hémolyse avec le bacille-Bordet comme antigène, tandis que, sur 5 malades atteints de la coqueluche, le sérum des trois a amené cet empêchement.

Comme aucun des malades examinés, d'après les renseignements fournis et d'après l'examen à la clinique, n'a été suspect de la syphilis, le fait que le sérum syphilitique combiné à l'antigène microbien peut provoquer un empêchement non spécifique de l'hémolyse, n'a eu aucune influence sur les réactions faites par moi avec le sérum coquelucheux; parmi les cas de contrôle il y a un seul malade ayant la syphilis congénitale, il a donné une réaction de Wassermann négative (renseignement fourni de l'hôpital Rudolph-Berg), et il n'a pas provoqué d'empêchement de l'hémolyse avec le bacille-Bordet comme antigène.

Une cause d'erreur semblable pourrait exister dans la scarlatine où la réaction positive de Wassermann peut, comme on le sait, se rencontrer sans qu'il s'agisse de la syphilis. Comme il résulte des essais de contrôle, cette possibilité n'est que faible, les réactions positives qu'on y a trouvées étant isolées, ce qui correspond à peu près à ce qui a lieu dans la diphtérie où cette cause d'erreur n'existe pas (voyez le tableau III).

Les résultats des réactions de la fixation du complément avec le sérum de malades qui ont ou qui ont eu la coqueluche, et avec une suspension dans de l'eau salée du bacille-Bordet comme antigène, sont cités dans le tableau II dans lequel les malades, par rapport au stade de la maladie, sont rangés dans l'ordre chronologique; dans le cas où le même malade a été examiné plusieurs fois, les résultats de ces examens sont réunis dans une colonne de côté en face du premier examen.

TABLEAU II

Résultats des expériences de la fixation du complément avec le sérum des malades qui sont ou qui ont été atteints de la coqueluche, et avec le bacille-Bordet comme antigène.

| N ^{os} | COMPLICATIONS | PÉRIODE du STADE CONVULSIF | Hémo- lyse | EXAMEN RÉPÉTÉ | |
|-----------------|---------------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|-----------|
| | | | | Période | Hémolyse. |
| 97 | — | 1 semaine. | 5 | | |
| 38 | — | 1 semaine. | 5 | | |
| 89 | — | 1 semaine. | 5 | | |
| | | | | 3 semaines. | 3 |
| 102 | — | 2 semaines. | 5 | 4 semaines. | 2 |
| | | 2 semaines. | 5 | | |
| 101 | Gastro-entérite | 2 semaines. | 5 | 3 semaines. | 0 |
| | | | | 3 semaines. | 1 |
| 133 | Catarrhe intestinal . . . | 2 semaines. | 4 | 4 semaines. | 0 |
| | | | | 3 semaines. | 4 |
| 93 | — | 2 semaines. | 3 | 5 semaines. | 0 |
| | | | | 4 semaines. | 3 |
| 69 | Catarrhe intestinal . . . | 3 semaines. | 4 | 5 semaines. | 0 |
| | | | | 4 semaines. | 2 |
| | | | | 5 semaines. | 2 |

| N ^{os} | COMPLICATIONS | PÉRIODE du STADE CONVULSIF | Hémo- lyse | EXAMEN RÉPÉTÉ | |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|----------|
| | | | | Période | Hémolyse |
| 89 | | 3 semaines. | 3 | | |
| 102 | | 3 semaines. | 0 | | |
| 101 | | 3 semaines. | 1 | | |
| 133 | | 3 semaines. | 4 | | |
| 92 | Pneumonie | 3 semaines. | 2 | 4 semaines. | 5 |
| 107 | Spondylite | 3 semaines. | 3 | | |
| 84 | Pneumonie | 3 semaines. | 3 | | |
| 131 | Pneumonie | 3 semaines. | 1 | 3 mois. | 4 |
| 90 | Bronchite, Eclampsie | 3 semaines. | 2 | | |
| 91 | Rougeole | 3 semaines. | 0 | | |
| 132 | Eclampsie | 3 semaines. | 2 | | |
| 89 | — | 4 semaines. | 2 | | |
| 101 | — | 4 semaines. | 0 | | |
| 93 | — | 4 semaines. | 3 | | |
| 69 | — | 4 semaines. | 2 | | |
| 92 | — | 4 semaines. | 5 | | |
| 103 | Bronchite capillaire | 4 semaines. | 1 | | |
| 80 | — | 4 semaines. | 1 | | |
| 120 | — | 4 semaines. | 3 | | |
| 59 | Eclampsie, Pneumonie | 4 semaines. | 5 | | |
| 107 | — | 4 semaines. | 1 | | |
| 133 | — | 5 semaines. | 0 | | |
| 93 | — | 5 semaines. | 0 | | |
| 69 | — | 5 semaines. | 2 | | |
| 127 | Eclampsie | 5 semaines. | 1 | | |
| 15 | Eclampsie, Pneumonie | 5 semaines. | 3 | | |
| 16 | Pneumonie | 5 semaines. | 1 | | |
| 123 | Pneumonie | 5 semaines. | 1 | 2 mois. | 1 |
| | Hémiplégie | | | | |
| 47 | — | 5 semaines. | 1 | | |
| 7 | Pneumonie | 5 semaines. | 2 | | |
| | Eclampsie | | | | |
| 121 | — | 5 mois. | 1 | | |
| 70 | — | 2 mois. | 2 | | |
| 123 | — | 2 mois. | 1 | | |
| 129 | Bronchite + D. B. (*) | 2 mois. | 3 | | |
| 106 | Pneumonie | 2 mois. | 2 | | |
| | — | 2 mois. | 1 | | |
| 6 | Gastro-entérite | 2 mois. | 1 | | |
| 114 | Scarlatine | 2 mois. | 0 | | |
| 111 | Scarlatine | 2 mois. | 1 | | |
| 18 | — | 2 mois. | 1 | | |
| 105 | Tuberculose | 2 mois. | 1 | 3 mois. | 1 |
| | | | | 4 mois. | 1 |
| 130 | Rougeole | 2 mois. | 0 | | |
| 51 | Rougeole | 3 mois. | 0 | | |
| 105 | — | 3 mois. | 1 | | |
| 131 | — | 3 mois. | 4 | | |
| 13 | — | 3 mois. | 2 | | |
| 101 | Laryngite | 3 mois. | 0 | | |
| 116 | — | 3 mois. | 1 | | |
| 98 | Rougeole | 3 mois. | 5 | | |

(*) D. B. = Bacille de la diphtérie.

| N ^o . | COMPLICATIONS | PÉRIODE du STADE CONVULSIF | Hémo- lyse | EXAMEN RÉPÉTÉ | |
|------------------|-----------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|----------|
| | | | | Période | Hémolyse |
| 85 | Rougeole | 3 mois. | 3 | 6 mois. | 5 |
| 106 | Rougeole | 3 mois. | 2 | | |
| | Pneumonie | 3 mois. | 3 | | |
| 112 | Rougeole | 3 mois. | 2 | | |
| 99 | Scarlatine | 3 mois. | 2 | | |
| 44 | Scarlatine | 3 mois. | 2 | | |
| 86 | Pneumonie | 3 mois. | 0 | | |
| 124 | Scarlatine | 3 mois. | 2 | | |
| | | | 3 | | |
| 105 | | 4 mois. | 1 | | |
| 116 | Rougeole | 4 mois. | 2 | | |
| 117 | Rougeole | 4 mois. | 3 | | |
| 96 | — | 3 mois. | 2 | | |
| 95 | Pneumonie | 5 mois. | 3 | | |
| 119 | Rougeole | 5 mois. | 3 | | |
| 49 | Diph. fauc. | 5 mois. | 0 | | |
| 95 | | 6 mois. | 5 | | |
| | | (1 semaine de récurrence) | | | |
| 74 | Rougeole | 18 mois. | 2 | | |
| 108 | Rougeole | 18 mois. | 5 | | |
| 113 | Rougeole | 18 mois. | 1 | | |
| 114 | Rougeole | 18 mois. | 4 | | |
| 52 | Rougeole | 1 à 2 ans. | 0 | | |
| 21 | Diph. laryng. | 1 à 2 ans. | 4 | | |
| 14 | Diph. laryng. | 1 à 2 ans. | 2 | | |
| 44 | Scarlatine | 1 à 2 ans. | 4 | | |
| 78 | Diph. fauc. | 2 à 3 ans. | 0 | | |
| 101 | Diph. fauc. | 2 à 3 ans. | 5 | | |
| 34 | Scarlatine | 2 à 3 ans. | 4 | | |
| 57 | Scarlatine | 2 à 3 ans. | 5 | | |
| 62 | Scarlatine | 2 à 3 ans. | 2 | | |
| 79 | Scarlatine | 2 à 3 ans. | 4 | | |
| 111 | Rougeole | 2 à 3 ans. | 3 | | |
| 100 | Diph. fauc. | 2 à 3 ans. | 5 | | |
| 64 | Scarlatine | 3 à 4 ans. | 5 | | |
| 51 | Scarlatine | 3 à 4 ans. | 0 | | |
| 35 | Scarlatine | 3 à 4 ans. | 5 | | |
| 63 | Scarlatine | 3 à 4 ans. | 5 | | |
| 36 | Scarlatine | 3 à 4 ans. | 5 | | |
| 53 | Scarlatine | 4 à 5 ans. | 0 | | |
| 109 | Rougeole | 4 à 5 ans. | 4 | | |
| 28 | Diph. fauc. | 4 à 5 ans. | 2 | | |
| 110 | Rougeole | 5 à 6 ans. | 1 | | |
| 27 | Diph. fauc. | 6 à 7 ans. | 4 | | |
| 32 | Diph. fauc. | 6 à 7 ans. | 2 | | |
| 37 | Scarlatine | 6 à 7 ans. | 4 | | |
| 100 | Scarlatine | Guéri. | 3 | | |
| 61 | Rougeole | Guéri. | 3 | | |
| 55 | Rougeole | Guéri. | 0 | | |
| 87 | Rougeole | Guéri. | 2 | | |

| Nos | AGE (ans) | COMPLICATIONS | PÉRIODE du STADE CONVULSIF | Hémo- lyse | EXAMEN RÉPÉTÉ | |
|-----|--------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|----------|
| | | | | | Période | Hémolyse |
| 22 | 17 | Diph. fauc. | Plusieurs années. | 2 | | |
| 23 | 5 | Diph. fauc. | <i>Id.</i> | 3 | | |
| 49 | 7 | Diph. fauc. | <i>Id.</i> | 4 | | |
| 76 | 10 | Diph. fauc. | <i>Id.</i> | 1 | | |
| 48 | 12 | Diph. fauc. | <i>Id.</i> | 3 | | |
| 77 | 4 | Diph. fauc. | <i>Id.</i> | 5 | | |
| 72 | 6 | Diph. fauc. gravis. | <i>Id.</i> | 5 | | |
| 66 | 4 | Diph. laryng. | <i>Id.</i> | 2 | | |
| 42 | 2 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 2 | | |
| 41 | 8 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 3 | | |
| 46 | 7 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 5 | | |
| 43 | 6 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 5 | | |
| 40 | 5 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 2 | | |
| 39 | 10 | Scarlatine. | <i>Id.</i> | 3 | | |
| 118 | 5 | Diph. gravis. | <i>Id.</i> | 5 | | |
| 73 | 10 | Rougeole. | <i>Id.</i> | 0 | | |

TABLEAU III.

Cas de Contrôle.

MALADES QUI, D'APRÈS LES RENSEIGNEMENTS FOURNIS,
N'ONT PAS EU LA COQUELUCHE.

| Nos | AGE | MALADIE | SEMAINE de la MALADIE | COM- PLICATIONS | Hémolyse | REMARQUES |
|-----|-------------------|-------------|-----------------------------|--------------------|----------|-----------|
| 14 | 6 ans. | Scarlatine. | 1 | — | 5 | |
| 59 | 11 à 12 a. | <i>Id.</i> | 1 | — | 5 | |
| 44 | 10 à 12 a. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 18 | 6 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 15 | 9 ans. | <i>Id.</i> | 3 | — | 5 | |
| 9 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 4 | — | 5 | |
| 16 | 3 ans. | <i>Id.</i> | 4 | D. B. | 5 | |
| 19 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 4 | — | 5 | |
| 20 | 6 ans. | <i>Id.</i> | 4 | — | 5 | |
| 46 | 2 ans | <i>Id.</i> | 4 | — | 5 | |
| 21 | 6 mois. 6 ans. | <i>Id.</i> | 4 | — | 5 | |

| N ^o | AGE | MALADIE | SEMAINE de la MALADIE | COM- PLICATIONS | Hémolyse | REMARQUES |
|----------------|---------|-------------|-----------------------------|--------------------------|----------|--|
| 10 | 1 an | Scarlatine. | 5 | D. B. | 4 | |
| 11 | 9 mois. | <i>Id.</i> | 5 | — | 5 | |
| 23 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 5 | — | 3 | Renseignements du malade. |
| 22 | 13 ans. | <i>Id.</i> | 6 | — | 5 | |
| 28 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 6 | — | 4 | Le frère du n ^o 17. |
| 24 | 9 ans. | <i>Id.</i> | 6 | — | 3 | |
| 32 | 6 ans. | <i>Id.</i> | 6 | — | 2 | Renseignements du malade. |
| 43 | 9 ans. | <i>Id.</i> | 7 | — | 5 | |
| 17 | 1 an. | <i>Id.</i> | 7 | — | 2 | Examiné aussi dans la 8 ^e semaine. |
| 33 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 7 | — | 4 | Examiné aussi dans la 7 ^e semaine. |
| 17 | 6 ans. | <i>Id.</i> | 8 | — | 2 | |
| 12 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 8 | Néphrite. | 5 | |
| 29 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 8 | — | 4 | |
| 36 | 3 ans. | Récidive. | Récid. | — | 4 | |
| | 2 ans. | Diphthérie. | 1 | — | 1 | Le frère de 9 frères et sœurs (le plus âgé 11 ans), dont quelques-uns ont été atteints de la coqueluche. |
| | 6 mois. | | | | | |
| 25 | 3 ans. | <i>Id.</i> | 1 | — | 5 | |
| 39 | 10 ans. | <i>Id.</i> | 1 | — | 3 | |
| 67 | 13 ans. | <i>Id.</i> | 1 | — | 5 | |
| 26 | 12 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 27 | 11 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 8 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 2 | Obs. pour la scarlatine. | 5 | |
| 5 | 3 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 30 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | Sang pris par une ponction du cœur, peu de temps après la mort. |
| 4 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 2 | — | 5 | |
| 35 | 1 an. | <i>Id.</i> | 2 | Pneumonie apr. rougeole. | 5 | |
| 60 | 5 ans. | Croup. | 2 | Rougeole | 5 | |
| | | Diphthérie. | | il y a 3 sem. | | |
| 62 | 6 ans. | Croup. | 2 | — | 5 | |
| | | Diphthérie. | | | | |
| 65 | 5 ans. | Croup. | 2 | — | 5 | |
| | | Diphthérie. | | | | |
| 37 | 3 ans. | <i>Id.</i> | 3 | — | 5 | |

| N ^{os} | AGE | MALADIE | SEMAINE de la MALADIE | COM- PLICATIONS | Hémolyse | REMARQUES |
|-----------------|------------------|-------------|-----------------------------|--------------------|----------|--|
| 7 | 6 ans. | Diphthérie. | 3 | — | 3 | Un frère, plus âgé d'un an a eu la coqueluche. |
| 3 | | <i>Id.</i> | 3 | — | 5 | |
| 64 | 2 ans 6 mois. | <i>Id.</i> | 3 | — | 3 | |
| 66 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 3 | — | 5 | |
| 68 | | <i>Id.</i> | 3 | — | 3 | |
| 33 | 5 ans. | <i>Id.</i> | 3 | — | 2 | |
| | | | | | | |

| N ^{os} | AGE | MALADIE | JOUR de la MALADIE | COM- PLICATIONS | Hémolyse | REMARQUES |
|-----------------|------------|---|--------------------------|--------------------------|----------|--|
| 63 | 1 a. 9 m. | Croup. | 4 | — | 0 | Un frère a eu la coqueluche il y a un an. Sang pris par une ponction du cœur, peu de temps après la mort. |
| 49 | 5 ans. | Diphthérie. | 8 | — | 5 | |
| | | | | | | |
| 72 | 2 a. 9 m. | Rougeole. | 5 | Lues cong. | 5 | <i>Id.</i> |
| 73 | 1 a. 9 m. | <i>Id.</i> | 6 | — | 5 | |
| 6 | 8 à 12 a. | <i>Id.</i> | 6 | — | 4 | |
| 31 | 10 à 12 a. | <i>Id.</i> | 7 | Pneumonie. | 5 | |
| 41 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 9 | — | 5 | |
| 69 | 1 an. | <i>Id.</i> | 9 | Pneumonie. | 5 | |
| 71 | 1 an 3 m. | <i>Id.</i> | 11 | Pneumonie. | 5 | |
| 42 | 8 à 12 a. | <i>Id.</i> | 12 | Pneumonie. | 5 | |
| 45 | 2 ans. | <i>Id.</i> | 13 | — | 5 | |
| 57 | 24 ans. | <i>Id.</i> | 18 | Laryngite. | 5 | |
| 61 | 10 a. 1 m. | <i>Id.</i> | 25 | — | 5 | <i>Id.</i> |
| 58 | 11 à 12 a. | <i>Id.</i> | 26 | — | 5 | |
| 54 | 6 mois. | <i>Id.</i> | 32 | Furoncles. + D. B. | 5 | |
| 53 | 10 à 12 a. | <i>Id.</i> | 46 | Rougeole cordis cong. | 5 | |
| 1 | 18 ans. | Poliomyél. | 6 | — | 5 | |
| 2 | 4 ans. | <i>Id.</i> | 7 | — | 5 | |
| 50 | 1 an. | Laryngite, obs. pour le croup. | 1. | Pneumonie. | 5 | |
| 52 | 2 ans. | Obs. pour <i>Tussis</i> conv. | — | Pleurite. | 5 | |
| 60 | 2 ans. | Obs. pour croup ou p. <i>Tussis</i> conv. Laryngite. | — | — | 5 | |
| 65 | 6 mois. | Obs. pour <i>Tussis</i> conv. Diphthérie. | — | — | 4 | |
| 56 | 4 a. 6 m. | Obs. pour scarlatine. | — | — | 5 | Pas atteint de la coqueluche. |

Sur 123 sérums de malades qui étaient ou qui avaient été atteints de la coqueluche, 85, c'est-à-dire 69 p. 100, ont donné une réaction positive (empêchement de l'hémolyse); sur 70 sérums de malades extraits depuis la 3^e semaine jusqu'au 6^e mois du stade convulsif, 63, c'est-à-dire 90 p. 100, ont donné une réaction positive. Les 68 sérums de contrôle provenaient de 67 malades (le malade, examiné deux fois, a réagi positivement les deux fois); sur ces 67 malades, 8, soit 11,9 p. 100, ont réagi d'une manière positive.

Dans le tableau IV les résultats des réactions de fixation avec le sérum coquelucheux sont réunis et disposés aussi bien selon le degré de l'hémolyse que selon la période du stade convulsif. Les cas sur lesquels on n'a pas pu avoir des renseignements détaillés sont disposés de sorte que la coqueluche récemment guérie est rangée sous la rubrique du 3^e mois du stade convulsif, et « plusieurs années » sous la rubrique de « plus de trois ans ».

TABLEAU IV.

Sérums de malades qui ont ou qui ont eu la coqueluche.

| DEGRÉ de L'HÉMOLYSE | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | TOTAUX | MOYENNE des chiffres DE L'HÉMOLYSE |
|---------------------------|----|----|----|----|----|----|--------|--|
| 1 semaine | | | | | | 4 | 4 | 5 |
| 2 semaines | | | | 1 | 1 | 3 | 5 | 4,4 |
| 3 semaines | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | | 12 | 2 |
| 4 semaines | 1 | 3 | 2 | 2 | | 2 | 10 | 2,3 |
| 5 semaines | 2 | 5 | 2 | 1 | | | 10 | 1,2 |
| 2 mois | 2 | 6 | 2 | 1 | | | 11 | 1,1 |
| 3 mois | 1 | 2 | 7 | 4 | 1 | 2 | 20 | 2,1 |
| 4 à 6 mois | 1 | 1 | 2 | 3 | | | 7 | 2 |
| 6 mois à 1 an | | 1 | 1 | | 1 | 1 | 4 | 3 |
| 1 à 2 ans | 1 | | 1 | | 2 | | 4 | 2,5 |
| 2 à 3 ans | 1 | | 1 | 1 | 2 | 9 | 8 | 3,5 |
| Plus de 3 ans | 3 | 1 | 6 | 4 | 5 | 3 | 28 | 3,2 |
| Totaux | 17 | 21 | 27 | 20 | 14 | 24 | 123 | 2,5 |

Les chiffres du tableau indiquent le nombre des sérums.

On appelle surtout l'attention sur le fait qu'on ne trouve pas de réactions fortement positives pendant la 1^{re} et la 2^e semaine, de même qu'on n'en trouve presque pas de négatives pendant les III-VIII semaines.

TABLEAU V.

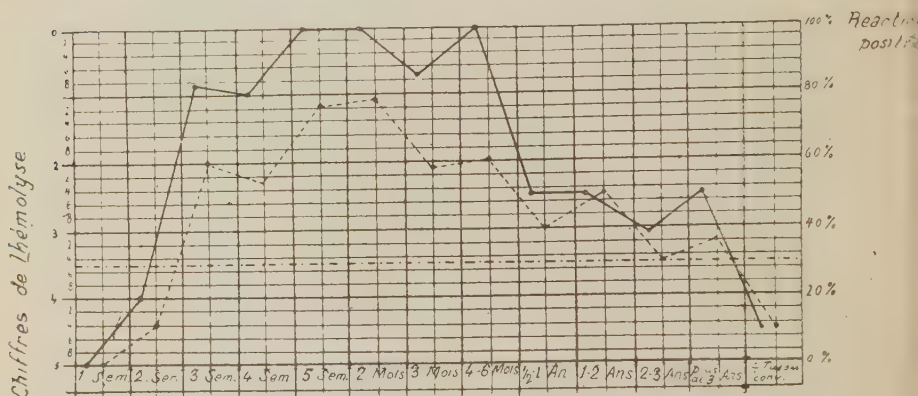
Sérums de malades qui n'ont pas eu la coqueluche.

| MALADIES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | TOTAUX | MOYENNE des chiffres DE L'HÉMOLYSE |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--------|--|
| Scarlatine | | | 3 | 2 | 4 | 15 | 24 | 4,3 |
| Diphtérie | 1 | 1 | 1 | 1 | | 19 | 23 | 4,3 |
| Rougeole | | | | | 1 | 13 | 14 | 4,9 |
| Autres maladies . . | | | | | | 7 | 7 | 5 |
| Totaux | 1 | 1 | 4 | 3 | 5 | 34 | 68 | 4,5 |

Il résulte de ce résumé que le sérum de malades qui sont ou qui ont été atteints de la coqueluche, donne très souvent une réaction de fixation du complément avec le bacille-Bordet comme antigène. La réaction ne se trouve pas pendant la 1^{re} semaine, elle peut se rencontrer pendant la 2^e semaine, et elle peut devenir manifeste quant au nombre et à l'intensité pendant la 3^e semaine du stade convulsif; dans la série de recherches faites par moi elle atteint son maximum aussi bien en quantité qu'en qualité pendant le 2^e mois, pour diminuer de nouveau peu à peu d'une manière assez continue; pourtant on peut rencontrer, même au bout de plusieurs années, une réaction positive.

Le pourcentage des réactions positives aux différents stades de l'affection est représenté ci-dessous à l'aide d'une courbe (la courbe noire) et d'un tableau. Cette courbe montre une augmentation depuis 0 au stade de l'incubation jusqu'à environ 100 p. 100 après le point culminant de l'affection, puis une diminution jusqu'à environ 50 p. 100 après la fin de la maladie. Pourtant cette courbe ne tient pas compte de la force de la réaction positive; pour montrer que les chiffres élevés au cours

de la maladie ne sont pas dus au fait que je n'ai pas ici laissé de côté les réactions douteuses, j'ai dessiné, fondée sur la moyenne des chiffres de l'hémolyse à l'intérieur de chaque groupe, une courbe dont l'abscisse indique la période de l'affection et l'ordonnée le degré de l'hémolyse. Une telle courbe représente ainsi en même temps l'intensité de l'hémolyse et le nombre des réactions (la courbe marquée par des points). On voit que cette courbe suit complètement la première.



| | | | | |
|-------------------------|----------------------|---------|------------|---------------|
| I semaine | du stade convulsif : | 4 cas. | 0 p. 100 | Réact. posit. |
| II semaines | — ' — | 5 cas. | 20 p. 100 | Réact. posit. |
| III semaines | — — | 12 cas. | 83 p. 100 | Réact. posit. |
| IV semaines | — — | 10 cas. | 80 p. 100 | Réact. posit. |
| V semaines | — — | 10 cas. | 100 p. 100 | Réact. posit. |
| II mois | — — | 11 cas. | 100 p. 100 | Réact. posit. |
| III mois | — — | 20 cas. | 85 p. 100 | Réact. posit. |
| IV à VI mois | — — | 7 cas. | 100 p. 100 | Réact. posit. |
| 6 mois à 1 an | — — | 4 cas. | 50 p. 100 | Réact. posit. |
| 1 à 2 ans | — — | 4 cas. | 50 p. 100 | Réact. posit. |
| 2 à 3 ans | — — | 8 cas. | 38 p. 100 | Réact. posit. |
| Plus de 3 ans | — — | 28 cas. | 50 p. 100 | Réact. posit. |

On voit que la moyenne de l'hémolyse est 4,5 dans les cas de contrôle, ce qui peut être causé par le manque d'exactitude des renseignements. Non seulement des défauts de mémoire relativement à chaque enfant peuvent se produire quand il s'agit d'une foule d'enfants, mais la coqueluche peut se passer d'une manière abortive, de sorte que l'affection n'est pas du tout reconnue. Les trois enfants examinés au début de l'affection

(1^{re} semaine du stade convulsif) et un enfant qui, d'après les renseignements, avait eu la coqueluche il y avait 6 mois, mais qui pendant le séjour à l'hôpital en fut atteint de nouveau (peut-être les renseignements ont été trompeurs; récidive?), ont montré tous l'hémolyse 5.

Si on regarde les différentes affections des cas de contrôle, on voit donc que les réactions positives se trouvent seulement parmi les cas de scarlatine et de diphtérie, où les malades sont souvent des enfants assez grands, et où par conséquent la possibilité d'avoir des renseignements inexacts est également assez grande, tandis qu'on n'a trouvé aucune réaction positive parmi les cas de rougeole où les malades, excepté un seul cas, n'avaient que 2 ans ou moins de 2 ans.

Dans la plupart des cas de coqueluche on ne peut donc s'attendre à une réaction de fixation positive avec le bacille-Bordet comme antigène qu'à la 3^e semaine du stade convulsif, quelquefois seulement à la 4^e ou à la 5^e semaine, comme dans les cas n° 69 et n° 133 (tableau II). La réaction peut rester positive pendant plusieurs années, pourtant elle peut aussi disparaître assez vite comme dans le cas n° 131 (tableau II), qui avait donné dans la 3^e semaine une réaction positive et dans le 3^e mois une réaction négative. Ce résultat correspond essentiellement à celui de Weil et Netter, ces auteurs ayant trouvé chez 16 enfants une réaction négative dans la 1^{re} semaine et une réaction positive constante à partir de la 3^e semaine (16 enfants), ainsi qu'à celui de Friedländer et Wagner qui, chez 18 enfants atteints d'une coqueluche manifeste, ont trouvé dans tous les cas une réaction positive, tandis que, sur 3 enfants atteints d'une coqueluche au début, deux ont réagi d'une manière positive, le 3^e d'une manière négative (on a employé un sérum actif).

Dans 6 cas j'ai eu l'occasion de suivre l'intensité de la réaction au cours de la maladie, depuis une réaction nulle ou faible jusqu'à une réaction décidément positive. Le petit nombre de cas est dû à ce fait que le matériel est assez difficile à procurer; le plus souvent il s'agit de malades à une période si peu avancée de la maladie qu'ils ne sont pas

encore l'objet d'une observation ou d'un traitement. Ces cas, qui se trouvent aussi dans le tableau II, sont réunis dans le tableau VI.

TABLEAU VI.

| Nos | DATE de L'EXAMEN | PÉRIODE du STADE CONFULSIF | HÉMOLYSE | OBSERVATION | |
|------|---------------------------|----------------------------------|----------|--|--|
| 1913 | | | | | |
| 102 | 1 ^{er} décembre. | 2 semaines. | 5 | Également avec la demi-dose du sérum (0,1-2,5) un empêchement fort (hémolyse 1). | |
| | 6 décembre. | 2 semaines. | 5 | | |
| | 13 décembre. | 3 semaines. | 0 | | |
| 101 | 1 ^{er} décembre. | 2 semaines. | 5 | | |
| | 6 décembre. | 3 semaines. | 1 | | |
| | 13 décembre. | 4 semaines. | 0 | | |
| 1914 | | | | | |
| 69 | 15 janvier . . | 2 à 3 semaines. | 1 | | |
| | 30 janvier . . | 4 semaines. | 2 | | |
| | 4 février . . | 5 semaines. | 2 | | |
| 77 | 4 février . . | ca. 2 semaines. | 4 | | |
| | 14 février . . | 3 à 4 semaines. | 1 | | |
| | 24 février . . | 5 à 6 semaines. | 0 | | |
| 89 | 3 mars . . . | ca. 1 semaine.. | 5 | | |
| | 14 mars . . . | 3 semaines. | 3 | | |
| | 20 mars . . . | 4 semaines. | 2 | | |
| 93 | 4 mars . . . | 2 semaines. | 3 | | |
| | 14 mars . . . | 4 semaines. | 3 | | |
| | 20 mars . . . | 5 semaines. | 0 | | |

Je n'ai pas eu l'occasion d'examiner plus tard un malade qui dans la 1^{re} semaine du stade convulsif avait donné une réaction négative (n° 38, tableau II); quant à un autre malade (n° 97, tableau II), l'examen dans la 3^e semaine a été négatif et aucune occasion d'examen ne s'est présentée plus tard.

Dans tous les cas de coqueluche qui ont été observés à une période de la maladie où on a pu mettre en évidence les

anticorps correspondant au bacille-Bordet *ces anticorps se sont formés et ont augmenté au cours de la maladie*; cette constance est assez importante quand il s'agit de juger du rôle étiologique du bacille-Bordet dans la coqueluche.

Les résultats des réactions de la fixation du complément de Bordet-Gengou dans la coqueluche avec le bacille-Bordet comme antigène, correspondent donc assez exactement aux résultats des autres réactions de l'immunité comme par exemple : l'agglutination dans la fièvre typhoïde. Dans la littérature qui est à ma disposition, je n'ai pu trouver une série suivie de recherches correspondant à celle faite par moi dans la coqueluche, par conséquent je n'ai pu faire une comparaison avec la marche des réactions de fixation faites dans d'autres maladies d'après la méthode de Bordet-Gengou.

Sur 70 épreuves sur des sangs extraits pendant ou après la coqueluche, où on pourrait s'attendre à une réaction positive (3^e semaine — 6^e mois), il y en avait 7 qui ont réagi d'une manière négative; ces 7 sérums provenaient de 7 malades dont 2 se trouvaient dans la 3^e semaine, 2 autres dans la 4^e semaine, et 3 dans le 3^e mois du stade convulsif. Les 2 malades qui étaient dans la 3^e semaine, n° 69 et n° 133, ont donné une réaction positive respectivement dans la 4^e et dans la 5^e semaine (voyez le tableau VI); dans ces cas il a donc été question d'une réaction positive paraissant relativement tard. Les deux malades étant dans la 4^e semaine étaient les n° 92 et 59 (tableau II). Le n° 92 était atteint de la coqueluche compliquée de la pneumonie, et il a donné dans la 3^e semaine, dans laquelle la pneumonie s'est manifestée, l'hémolyse 2. Dans la 4^e semaine, quand le malade est mort après avoir eu pendant quelques jours des accès cérébraux légers, le sang pris par une ponction du cœur, peu de temps après la mort, a montré l'hémolyse 5. Le n° 59 est entré à l'hôpital dans la 4^e semaine et il est mort le jour même de son entrée après des accès d'éclampsie assez graves. Le sang pris peu de temps après la mort a montré, dans ce cas aussi, l'hémolyse 5. A l'autopsie on a trouvé une pneumonie et une hyperémie grave du cerveau.

Les trois malades qui ont réagi négativement dans le 3^e mois

étaient le n° 131, ayant donné une réaction positive dans la semaine, et les n°s 98 et 85 qui tous deux étaient atteints de la rougeole; le n° 98, examiné 12 jours après l'apparition de l'exanthème, avait de légères quintes de toux coquelucheuse, mais il se portait d'ailleurs bien et il a eu la maladie sans complications. Le n° 85 était atteint et de la pneumonie et de la rougeole; il est mort de la pneumonie 6 jours après l'apparition de l'exanthème. Le sang du cœur, pris peu de temps après la mort, a donné l'hémolyse 5.

Le fait qu'il peut se trouver dans une série de recherches de cette sorte quelques cas où on ne peut mettre en évidence les anticorps spécifiques n'empêche pas que l'infection dont il s'agit ait eu lieu; c'est un phénomène bien connu dans d'autres réactions d'immunité que la production des anticorps spécifiques dans le sérum est soumise à des oscillations individuelles et qu'il se rencontre des cas où la présence de ces anticorps ne peut se constater malgré l'infection éprouvée. Quant au n° 92 cette explication n'est pas suffisante, le malade ayant réagi déjà d'une manière positive. Il se pourrait donc que dans ce cas il fallût chercher la cause de la réaction dans une production augmentée de toxines, causée par la pneumonie, ces toxines neutralisant les anticorps circulants, ou peut-être dans une irruption des microbes spécifiques dans les veines, ce qui aurait donné le même résultat. Sans doute on peut trouver dans la coqueluche une infection bactérienne causée par le bacille-Bordet; Seiffert a réussi ainsi à isoler le bacille-Bordet du sang, du foie, des bronches et des poumons d'un enfant mort de la broncho-pneumonie consécutive à la coqueluche; Klimenko a réussi également à isoler le bacille-Bordet de l'oreillette droite et des parties catarrhales des poumons d'un enfant mort dans la 3^e semaine du stade convulsif. Par contre l'examen bactériologique du sang de 33 malades pris *in vivo* a donné un résultat négatif. Dans les 7 cas de coqueluche au stade convulsif où j'ai extrait le sang par une ponction du cœur peu de temps après la mort, ce sang a été toujours stérile. Il faut aussi, ce qui a été accentué par Klimenko qui s'appuie sur un grand matériel expérimental (57 chiens), supposer la possibilité que les bacilles se multiplient après la mort et que des poumons ils pénètrent dans les veines.

Quant aux cas qui ont donné une réaction négative dans le 3^e mois, on peut supposer une disparition prématurée de la réaction, conformément à ce qu'on a trouvé chez le n° 87.

Quant aux deux cas compliqués, de rougeole, la réaction négative pourrait être due non seulement à la possibilité d'une disparition prématurée de la réaction, mais aussi à la période « anergique » dont l'apparition dans la rougeole a été constatée par v. Pirquet; d'après les recherches de cet auteur la période en question se manifeste dans la tuberculose par l'absence d'une réaction cutanée ou sous-cutanée de la tuberculine chez les malades qui autrement réagissent d'une manière positive; cette absence de la réaction se voit pendant une période qui va depuis environ un jour avant l'apparition de l'exanthème jusqu'à environ 6 jours après cette apparition; après cette période la réaction apparaît de nouveau augmentant continuellement à moins qu'il ne survienne une tuberculose miliaire ou des maladies semblables.

Pendant cette période « anergique », où les antitoxines sont paralysées d'une manière quelconque, le malade est particulièrement sensible à l'infection en question.

Quant à la coqueluche on voit souvent que les accès déjà diminués augmentent de nouveau au cours de la rougeole, ce qui, selon ce qui précède, pourrait s'attribuer à la paralysie des anticorps; cette paralysie se manifesterait, conformément à ce qui a lieu dans la tuberculose, par l'absence des réactions d'immunité.

Dans la littérature à ce sujet cette possibilité n'a été mentionnée que par Weil; sur 3 enfants, respectivement dans la 3^e et la 5^e semaine et dans le 3^e mois du stade convulsif, deux étaient au premier jour de l'exanthème de rougeole, le 3^e au 3^e jour de celui-ci. Le résultat d'une réaction de fixation du complément avec le bacille-Bordet comme antigène a été complètement négatif chez les 2 enfants au premier jour du stade exanthémateux et faiblement positif chez le 3^e.

Pour mieux vérifier ce résultat j'ai examiné le sang de quelques enfants ayant eu la coqueluche, aux différentes périodes après l'apparition de l'exanthème de la rougeole. Les résultats sont cités dans le tableau VII.

TABLEAU VII

(Les numéros : tableau II)

| N ^{os} | JOUR de L'EXANTHÈME de la ROUGEOLE | PÉRIODE de la COQUELUCHE | COM- PLICATIONS | Hémolyse | REMARQUES |
|-----------------|--|--------------------------------|--------------------|----------|---|
| 73 | 1 | Plusieurs années. | — | 0 | |
| 55 | 1 | Guérie. | — | 0 | |
| 106 | 1 | 3 mois. | Pneumonie. | 2 | |
| 119 | 2 | 5 mois. | — | 3 | |
| 113 | 3 | 6 mois à 1 an. | — | 1 | |
| 110 | 4 | 5 ans. | — | 4 | |
| 52 | 5 | 1 an. | — | 0 | |
| 85 | 6 | 3 mois. | Pneumonie. | 5 | |
| 114 | 6 | 6 mois à 1 an. | — | 4 | |
| 106 | 6 | 3 mois. | — | 3 | Examiné aussi le premier jour de l'exanthème. |
| 111 | 6 | 2 à 3 ans. | — | 3 | |
| 51 | 8 | 3 mois. | — | 0 | |
| 117 | 8 | 4 mois. | — | 3 | |
| 112 | 9 | 3 mois. | — | 2 | |
| 116 | 11 | 4 mois. | — | 2 | |
| 98 | 12 | 3 mois. | Pneumonie. | 5 | |
| 61 | Guérie. | Guérie. | Pneumonie. | 3 | Marques d'après l'exanthème de la rougeole. |
| 91 | 18 | 3 semaines. | — | 0 | |
| 180 | 20 | 2 mois. | Pneumonie. | 0 | |
| 108 | 21 | 6 mois à 1 an. | — | 5 | |
| 109 | 30 | 4 ans. | — | 4 | |

Comme on le voit par ce résumé, j'ai eu un résultat tout à fait contraire à celui trouvé par Weil, l'infection de la rougeole n'ayant eu dans mes expériences aucune influence sensible sur le résultat de la réaction, surtout pendant les premiers jours de l'exanthème.

III

ESSAIS DE CONTROLE

Les résultats des réactions de fixation avec le sérum de malades n'ayant pas eu la coqueluche, et avec le bacille-Bordet comme antigène, sont cités dans le tableau III.

Sur 67 malades, 8, dont 4 étaient atteints de la scarlatine et 4 de la diphtérie, ont réagi positivement. Parmi les 4 atteints de la scarlatine, les renseignements sur 2 d'entre eux, à savoir le n° 23, âgé de 13 ans et le n° 32, âgé de 9 ans, sont dus aux malades eux-mêmes. Le n° 24, âgé de 6 ans, était l'enfant unique des parents et ceux-ci ont déclaré nettement que l'enfant n'avait pas eu la coqueluche. Le n° 17 était âgé de 2 ans et il a donné aussi à plusieurs reprises une réaction positive. D'après les renseignements l'enfant n'avait pas eu la coqueluche et un frère âgé de 9 ans qui était, lui aussi, atteint de la scarlatine réagit négativement (l'hémolyse 4).

Des 4 malades atteints de la diphtérie, le n° 36 avait 9 frères et sœurs dont le plus âgé avait 11 ans; quelques-uns de ceux-ci avaient eu la coqueluche. Quant aux nos 63 et 35, les frères et les sœurs avaient eu également la coqueluche sans être isolés, pendant la maladie, des malades examinés. Le n° 39 était l'enfant unique des parents et d'après les renseignements il n'avait pas eu la coqueluche.

Il faut donc supposer que 3 de ces 8 malades qui ont réagi positivement avaient eu la coqueluche; quant à 2 des malades les renseignements sont dus aux enfants mêmes, dans 3 cas seulement il n'y a pas de raison plausible de douter de l'authenticité des renseignements fournis, ce qui pourtant n'empêche pas que les enfants aient pu avoir la coqueluche, mais que celle-ci, à cause d'une apparition abortive ou atypique, n'a pas été reconnue.

Il se rencontre quelquefois dans l'expectoration des rougeoleux des microbes qui, par l'examen microscopique et la coloration, ne se distinguent pas du bacille-Bordet, et, par leur

isolement par leur culture n'a que peu de chance de réussir — selon l'expérience faite dans la rougeole — à cause de l'abondance extrêmement grande d'autres microbes différents, aussi dans mes essais de contrôle j'ai fait attention aux malades ayant eu antérieurement la rougeole.

Outre les 14 cas de rougeole examinés depuis 5 jours après l'apparition de l'exanthème jusqu'à 46 jours après cette apparition, il se trouvait dans le tableau III, parmi les malades atteints de la scarlatine, 8 ayant eu antérieurement la rougeole dont 2 (n° 23 et n° 24) ont réagi positivement; parmi les malades atteints de la diphtérie, 12 dont 1 (n° 63) a réagi d'une manière positive; parmi ces 12 malades atteints de la diphtérie et ayant eu la rougeole, 2 en avaient été atteints il y avait 3 semaines, 2 il y avait 3 mois; tous les 4 ont réagi négativement. Des autres cas de contrôle deux avaient eu la rougeole, l'un il y avait 6 semaines; tous les deux ont réagi négativement. En somme il y avait donc 36 malades ayant eu la rougeole, depuis 5 jours après l'apparition de l'exanthème jusqu'à plusieurs années après la guérison de cette maladie. Trois parmi eux ont réagi positivement; l'un de ceux-ci (n° 63) avait eu probablement la coqueluche.

Ce résultat est décidément contraire à la supposition que les microbes observés au microscope dans la rougeole, et qui ressemblent au bacille-Bordet, soient identiques à celui-ci.

Quelques-uns des bacilles isolés de l'expectoration coquelucheuse et semblables au bacille de l'influenza, mais non pas identiques au bacille de Bordet, ont été essayés comme antigène dans des tentatives de fixation du complément avec le sérum des malades de la coqueluche. Ces tentatives ont été pratiquées en même temps que des tentatives de fixation avec le bacille-Bordet comme antigène, lorsqu'il y avait assez de sérum; sinon, quelques jours plus tard. Dans le tableau des résultats de ces tentatives est indiqué en même temps le résultat de la tentative de fixation avec le bacille-Bordet. Dans 4 cas il n'y a pas de tentative avec le bacille-Bordet puisque je n'avais pas encore à ma disposition une souche de ce bacille. Les numéros d'ordre de ce tableau (tabl. VIII) correspondent complètement aux numéros du tableau II.

TABLEAU VIII

| N ^{os} | PÉRIODE de la COQUELUCHE | SOUCHE de L'INFLUENZA | HÉMOLYSE | HÉMOLYSE avec le BACILLE-BORDET |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|----------|---------------------------------------|
| 102 | 2 semaines. | 102 | 5 | 5 |
| 102 | 3 semaines. | 102 | 4 à 5 | 0 |
| 101 | 3 semaines. | 102 | 5 | 1 |
| 107 | 3 semaines. | 91 | 5 | 3 |
| 59 | 4 semaines. | 91 | 5 | 5 |
| 89 | 4 semaines. | 85 | 5 | 2 |
| 103 | 4 semaines. | 91 | 5 | 1 |
| 80 | 4 semaines. | 84 | 5 | 1 |
| 120 | 4 semaines. | 91 | 5 | 3 |
| 93 | 5 semaines. | 85 | 5 | 0 |
| 127 | 5 semaines. | 91 | 5 | 1 |
| 127 | 5 semaines. | 74 | 5 | |
| 15 | 5 semaines. | 91 | 5 | 3 |
| 15 | 5 semaines. | 74 | 5 | |
| 123 | 5 semaines. | 91 | 4 | 1 |
| 7 | 5 semaines. | 91 | 4 à 5 | 2 |
| | 5 semaines. | 74 | 5 | |
| 121 | 5 semaines. | 85 | 5 | 1 |
| 11 | 2 mois. | 15 | 5 | |
| 34 | 2 mois. | 15 | 5 | |
| 106 | 2 mois. | 91 | 5 | 2 |
| 106 | 2 mois. | 101 | 4 à 5 | 1 |
| 51 | 3 mois. | 101 | 5 | 0 |
| 114 | 2 mois. | 101 | 5 | 0 |
| 105 | 2 mois. | 91 | 4 à 5 | 1 |
| 105 | 3 mois. | 101 | 5 | 1 |
| Sv. J. | 3 mois. | 15 | 5 | |
| 86 | 3 mois. | 85 | 5 | 0 |
| 49 | 5 mois. | 85 | 5 | 0 |
| H. P. | 5 mois. | 15 | 5 | |
| 6 | 2 mois. | 91 | 5 | 1 |
| 100 | Guérie. | 91 | 5 | 3 |
| 100 | | 74 | 5 | |
| 132 | 3 semaines. | 84 | 5 | 2 |

Il résulte de ce qui précède *que les bacilles isolés de l'expectoration coquelucheuse, qui ressemblent au bacille de l'Influenza et qui ne sont pas identiques au bacille-Bordet, ne produisent pas d'anticorps manifestes amenant la fixation du complément dans le sérum de malades de la coqueluche.*

RECHERCHES SUR L'AGGLUTINATION.

J'ai examiné la plupart des souches isolées du bacille-Bordet et du bacille de l'influenza quant à l'agglutination sous l'influence des sérums de 50 malades atteints de la coqueluche et de 13 cas de contrôle. Cette série de recherches a montré : 1° *que l'agglutination du bacille-Bordet n'est pas un phénomène constant dans la coqueluche*; 2° *que l'agglutination a lieu aussi souvent dans les cas compliqués que dans les cas non compliqués*; 3° *que le sérum agglutine les échantillons du bacille de l'Influenza, isolés de l'expectoration coquelucheuse, dans un grand nombre de cas de coqueluche compliqués d'affections des poumons, rarement dans les cas non compliqués*; 4° *que l'agglutination des bacilles de l'Influenza cultivés de l'expectoration coquelucheuse sous l'influence du sérum coquelucheux est à peine un phénomène spécifique.*

* *

Mes recherches confirment donc essentiellement les indications de Bordet, les recherches sérologiques surtout ayant démontré que, dans le sérum de malades atteints de la coqueluche, il se rencontre constamment à certaines périodes de l'affection des anticorps spécifiques correspondant au bacille-Bordet dont l'existence se constate par la réaction de la fixation du complément de Bordet, et que la manière d'agir de ces anticorps correspond essentiellement aux expériences faites dans d'autres maladies dont le virus était connu.

D'après mon opinion, ceci prouve avec assez de certitude que le bacille-Bordet doit être regardé comme l'agent pathogène de la coqueluche.

LITTÉRATURE

- AFANASSIEF. — Étiologie und klinische Bakteriologie des Keuchhustens. *St. Petersburger med. Wochenschr.*, 1887 (Ref. d'après Klimenko et Poleff).
- ALMQUIST. — Einfluss von Jahreszeit und Witterung auf das Auftreten von Infektionskrankheiten. *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd 5, 1889.
- ARNHEIM (G.). — Beitrag zur Étiologie des Keuchhustens. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1900.
- Zur Pathogenese des Keuchhustens. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1903.
- Ueber den gegenwärtigen Stand der Keuchhustenfrage. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1908.
- Keuchhustenuntersuchungen. *Arch. für Kinderheilkunde*, Bd 50, 1909.
- Bemerkungen zu Klimenko. *Centralbl. f. Bakteriologie*, Bd 58, 1911.
- BÉCHER et MENSCHIKOFF. — Ueber die ätiologische Bedeutung des Bordet'schen Keuchhustenbacillus und der Versuch einer spezifischen Therapie der Pertussis. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 61, 1911.
- BOAS. — Wassermanns Reaktion, 1910.
- BORDET et GENGOU. — Le microbe de la coqueluche. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XX, 1906.
- Note complémentaire sur le microbe de la coqueluche. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, 1907.
- Étiologie de la coqueluche. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 43, 1907.
- Étiologie de la coqueluche. *Bull. de l'Acad. royale de méd. de Belgique* t. XXII, 1908 (Ref. La semaine méd. 1908).
- Étiologie de la coqueluche. État actuel de question. *Centralbl. f. Bakt.*, Ref. Bd 43, 1909.
- L'endotoxine coquelucheuse. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIII, 1909.
- Le diagnostic de la coqueluche fruste par la méthode de la fixation d'alexine. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 58, 1911.
- BORDET et SLEESWYK. — Sérodiagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910.
- BORDET. — Note complémentaire sur le microbe de la coqueluche et sa variabilité au point de vue du sérodiagnostic et de la toxicité. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 66, 1912.
- BUTTERMILCH. — Ueber den Erreger des Keuchhustens. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1899.
- BURGER. — Der Keuchhustenzpilz. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1883 (Ref. Klimenko, Sticker).
- CZAPLEWSKI et HENSEL. — Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1897 ou 1898.
- Bakt. Untersuchungen bei Keuchhusten. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 22 et 24, 1897.

- CZERNY. — Zur Therapie des Keuchhustens. *Therap. Monatshefte*, 1908.
- DOBELL. — Zur Ätiologie und Pathologie des Keuchhustens. *Correspondenzbl. f. Schweizerärzte*, Jg. 42, 1912.
- DUTHOIT. — Communication préliminaire sur le traitement sérothérapeutique de la coqueluche. *Bull. de l'Académie royale de méd. de Belgique*, t. XXVII, 1913 (Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 61, 1914).
- ELMASSIAN. — Note sur un Bacille des voies respiratoires. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899.
- FEER. — Behandlung des Keuchhustens. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908.
- Ueber das Wesen und über die Infektionsverhältnisse des Keuchhustens. *Med. klin.*, Jg. 10, N° 20.
- FINIZIO (G.). — Der Bordet-Gengou'sche Bacillus in der Ätiologie des Keuchhustens. *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, Bd 3, 1911.
- FRENKEL (C.). — Untersuchungen zur Entstehung des Keuchhustens. *Münchener med. Wochenschr.*, 1908.
- FREEMANN. — Meddelelse fra « Brit. med. Ass. » 1909 » (Originalbericht *Centralbl. f. Bakt.*, Ref. Bd 43, 1910).
- FRIEDLENDER et WAGNER. — Diagnostic of whooping-cough by the complement-deviation test. *Journ. amer. med. ass.*, vol. 62, 1914.
- INABA. — Ueber den Bordet-Gengou'schen Keuchhustenbacillus, besonders Uebertragungsversuche des Keuchhustens auf Tiere. *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, Bd IV, 1912.
- JACOBSEN (I.) et A. MEYER. — Undersøgelser over Kighostebacillen (Bordet-Gengou's Bacil). *Hospitalstidende*, n° 25, 1913.
- JOCHMANN. — Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 30, 1902.
- JOCHMANN et KRAUSE. — Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd 36, 1901.
- JOCHMANN et MOLTBRECHT. — Bac. pertussis Eppendorf. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 34, 1903.
- KLIMENKO. — Zur Frage über den Keuchhustenerreger von Bordet und Gengou. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 40, 1907.
- Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908.
- Ueber das Keuchhustenstäbchen von Bordet und Gengou. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 46, 1908.
- Die Ätiologie des Keuchhustens. Experimenteller Keuchhusten. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 48, 1909.
- Morphologie und Biologie des Keuchhustenbacillus. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 50, 1909.
- Bakteriologische Untersuchungen des Blutes von keuchhustenkranken Kindern und von mit Keuchhusten infizierten Tieren. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 56, 1910.
- Sur le sérum anticoquelucheux et son emploi. *Arch. des sciences biol.*, pub. par l'Inst. impérial de méd. expériment., t. XVII, 1912.
- KOLLE et WASSERMANN. — *Handbuch der pathog. Mikroorganismen*. 1^{re} édition, 1903-1907.

- KOPLIK. — Die Bakteriologie des Keuchhustens. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 22, 1897.
- KRAUS et LEVADITI. — *Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung*, 1907-1901.
- LEURIAUX. — L'agent pathogène de la coqueluche et la sérothérapie de cette affection. *La semaine médicale*, 1902.
- LEHMANN et NEUMANN. — *Bakteriologie*, 5 Aufl., 1912.
- LUZZATO. — Zur Ätiologie des Keuchh. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 27, 1900.
- MACWEN. — The conveyance of whooping cough from man to animals by direct experiment. *Brit. medic. Journal*, 1908.
- MALLORY, HORNER et HENDERSON. — The relation of Bordet-Gengou Bacillus to the lesion of pertussis. *Journ. of medical research*, vol. 27, 1913 (Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 59, 1914).
- MANICATIDE. — Ueber die Ätiologie und Serothérapie des Keuchhustens. *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd 45.
- Der Komplementbindungsvorgang bei Keuchhusten. *Zeitschrift f. Kinderheilk.*, Bd 7, 1913.
- MENSCHIKOFF. — Der Erreger des Keuchhustens. *Russky Vrach*, 1909 (Ref. *Münchener med. Wochenschr.*, 1910).
- MÜLLER (P. Th.). — *Vorlesungen über Infektion und Immunität*, 4. Aufl., 1912.
- *Vorlesungen über allgemeine Epidemiologie*, 1914.
- NEURATH. — Keuchhusten (Pfaundier et Schlossmann: *Handb. der Kinderheilk.*).
- ODAIRE. — Beiträge zur Kenntnis der hämoglobinophilen Bacillen, mit besonderer Berücksichtigung des Bordet'schen Bacillus. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 61, 1914.
- PERRÉ et GIVRE. — Note clinique sur 300 cas de coqueluche: Province médicale, 1882 (cit. d'après Weill et Pehu).
- PIRQUET-JURGENSEN. — *Morbili Monografi*, 1911.
- POLEFF. — Ueber den Bordet-Gengou'schen Keuchhustenbacillus. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 69, 1913.
- POPPER. — Ueber Pertussis. *Med. Klin. Jg.*, 10, 1914.
- REYHER. — Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Jahrbuch f. Kinderheilk.*, Bd LVIII, 1903.
- Ein weiterer Beitrag zur Pathologie des Keuchhustens. *Charité Ann.*, 1904.
- Bakt. Untersuchungen bei Keuchhusten. *Verh. d. Gesellsch. f. Kinderheilk.*, Meran, 1905. Originalbericht. *Centralbl. f. Bakt.*, 1906.
- Ueber die Bedeutung der bakt. Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens auftretenden Bronchopneumonien. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 14, 1907.
- ITTER (Jul.). — Ueber den Keuchhusten. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1896.
- Das Problem des Wesens und der Behandlung des Keuchhustens. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1914 (Ref. *Centr. f. Bakt.*, Bd, 61, 1914).
- SALOMONSEN (C. J.). — *Bakteriologisch Technik*. 1894.
- SAVINI. — Manicatides Bacillus. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd, 50, 1909.
- SCHIGA, IMAI, EGUCHI. — Eine Modification von Bordet-Gengou's Nährboden

- für die Keuchhustenbacillen, nebst einigen Ergebnissen in serologischer Beziehung. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 69, 1913.
- SRIFFERT. — Ueber den Bordet'schen Keuchhustenbacillus. *Münchener med. Wochenschr.*, 1909.
- SOULIM (H. et A.). — Contribution à l'étude de l'étiologie de la coqueluche. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXIII, 1907.
- SPENGLER. — Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1897.
- Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 29 1901.
- STICKER. — *Der Keuchhusten Monografi*, 1911.
- STICKER-LEICHTENSTERN. — *Influenza Monografi*, 1912.
- TEDESCO. — Bericht über die Influenzauntersuchungen an der Prosektur des Kaiser Franz Joseph-Spital. *Centralblatt. f. Bakt.*, Bd 43, 1907.
- VINZENZI. — Zur Ätiologie des Keuchhustens. *Centr. Bakt.*, Bd 31, 1910.
- WEIL. — La déviation du complément vis-à-vis du bacille de Bordet-Gengou dans la coqueluche. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, 1913.
- WEIL et NETTER. — La déviation du complément par le bacille de Bordet-Gengou dans la coqueluche. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, 1913.
- WEILL. — *Congrès de méd. interne de Lyon*, 1894 (cit. d'après Weill et Pehu).
- WEILL et PEHU. — Prophylaxie et traitement de la coqueluche. *La Semaine médicale*, 1901.
- WELDE. — Beitrag zur Ätiologie des Keuchhustens. *Monatschr. f. Kinderheilk.*, Bd 10, 1911.
- WOHLWILL. — Ueber Influenzabacillen in Bronchialbaum. *Münchener med. Wochenschrift*, 1908.
- WOLLSTEIN. — The Bordet-Gengou Bacillus of Pertussis. *Journ. of experiment. med.*, vol. 7, 1905.
- The Bordet-Gengou Bacillus of Pertussis. *Journ. of experiment. med.*, vol. 11, 1909.
- ZUSCH. — Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten, *Münchener med. Wochenschr.*, 1898.
- Id. *Centralbl. f. Bakt.*, 1898.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.